

Série A, N° 1122

N° D'ORDRE :

1973

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR **Henri DELAUNAY**

AGRÉGÉ DE PHYSIOLOGIE.

PROFESSEUR SANS CHAIRE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR L'EXCRÉTION
AZOTÉE DES INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 16 décembre 1927 devant la Commission d'examen

MM. PORTIER

Président

GUILLIERMOND

DEREIMS

} *Examineurs*

BORDEAUX

LES IMPRIMERIES SIRAUDEAU

(ANGERS-BORDEAUX)

80 bis, Cours de l'Argonne, 80 bis

1927



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554635_0032

Série A, N° 1122

N° D'ORDRE :

1973

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR **Henri DELAUNAY**

AGRÉGÉ DE PHYSIOLOGIE

PROFESSEUR SANS CHAIRE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR L'EXCRÉTION
AZOTÉE DES INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 16 décembre 1927 devant la Commission d'examen

MM. PORTIER

Président

GUILLIERMOND

DEREIMS

Examineurs

BORDEAUX

LES IMPRIMERIES SIRAUDEAU

(ANGERS BORDEAUX)

80 bis, Cours de l'Argonne, 80 bis

1927

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires . . P. APPELL, M. MOLL'ARD.

Professeurs honoraires }
P. PUISEUX.
V. BOUSSINESQ.
A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
G. SAGNAC.



Professeurs
Émile PICARD . . . Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KÖNIGS . . . Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT . . . Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET . . . Electrotechnique générale.
F. WALLERANT . . Minéralogie.
H. ANDOYER . . . Astronomie.
P. PAINLEVÉ . . . Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND . Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE . . . Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY . . . Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ . . . Chimie appliquée.
G. URBAIN . . . Chimie minérale.
Emile BOREL . . . Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS . . . Aviation.
Jean PERRIN . . . Chimie physique.
Rémy PERRIER . . Zoologie (Enseignement P. C. N.).
H. ABRAHAM . . . Physique.
M. MOLLIARD . . . Physiologie végétale.
E. CARTAN . . . Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE . . . Physiologie générale.
E. VES-LOT . . . Théorie des groupes et calcul des variations.
A. COTTON . . . Physique générale.
J. DRACH . . . Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY . . Physique.
Charles PÉREZ . . Zoologie.
Léon BERTRAND . . Géologie appliquée et géologie régionale.
R. LESPIEAU . . . Théories chimiques.
E. RABAUD . . . Biologie expérimentale.
P. PORTIER . . . Physiologie comparée.
E. BLAISE . . . Chimie organique.
P.-A. DANGEARD . Botanique.
P. MONTEL . . . Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT . Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ . . . Biologie maritime.
G. JULIA . . . Mathématiques générales.
A. JOB . . . Chimie générale.
A. MAILHE . . . Etude des combustibles.
L. LUTAUD . . . Géographie physique.
Eugène BLOCH . . Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT . . Mécanique des fluides et applications.
N. Géologie.

E. HÉROUARD . . Zoologie.
E. PÉCHARD . . . Chimie (Ens' P.C.N.).
V. AUGER . . . Chimie analytique.
M. GUICHARD . . Chimie minérale.
A. GUILLET . . . Physique.
C. MAUGUIN . . . Minéralogie.
L. BLARINGHEM . Botanique.
A. MICHEL-LÉVY . Pétrographie.
A. DEREIMS . . . Géologie.
R. DONGIER . . . Physique du globe.
A. DENJOY . . . Calcul différentiel et intégral.
H. BÉNARD . . . Physique (P. C. N.)

E. DARMOIS . . . Physique.
G. BRUHAT . . . Physique.
H. MOUTON . . . Chimie physique.
L. JOLEAUD . . . Paléontologie.
M. JAVILLIER . . Chimie biologique.
A. DUFOUR . . . Physique (P. C. N.).
F. PICARD . . . Zoologie (Evolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY . . Zoologie.
L. DUNOYER . . . Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND . Botanique.
A. DEBIERNE . . Radioactivité.

Secrétaire

Daniel TOMBECK.

A LA MÉMOIRE DE MON MAITRE

LE PROFESSEUR F. JOLYET

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

M. LE PROFESSEUR B. AUCHÉ

M. LE PROFESSEUR G. DENIGÈS

M. LE PROFESSEUR V. PACHON

A M. LE DOCTEUR A. HAMEAU

Président de la Société scientifique d'Arcachon.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ R. SIGALAS

Directeur de la Station biologique d'Arcachon,

A M. PAUL PORTIER
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS
ET A L'INSTITUT OCÉANOGRAPHIQUE

qui a bien voulu m'accueillir avec
la plus haute bienveillance, me
donner de précieux encouragements
et accepter la présidence de ma
thèse, j'adresse l'hommage de ma
reconnaissance.

RÉCHERCHES BIOCHIMIQUES SUR L'EXCRÉTION AZOTÉE DES INVERTÉBRÉS

INTRODUCTION

L'étude de la biochimie des invertébrés n'a pas obtenu jusqu'à présent, de la part des chercheurs, toute l'attention qu'elle mérite. Alors que les recherches chimiques et physiologiques, qui ont été faites chez les vertébrés sont innombrables, celles qui ont été consacrées aux invertébrés sont assez rares.

Cette constatation d'ordre général s'applique en particulier à une question qui nous préoccupe depuis longtemps, celle des mutations chimiques des matières azotées dans l'organisme animal.

Au cours de recherches antérieures, nous avons pu nous rendre compte des grands services que peut rendre la biochimie comparée à la physiologie générale. Elle est précieuse, en effet, et même indispensable, pour dégager des multiples et complexes réactions chimiques du fonctionnement cellulaire celles qui sont fondamentales.

Nous avons déjà beaucoup utilisé cette méthode, et nous lui devons en particulier d'avoir pu fixer de bonne heure le rôle important que jouent les acides aminés dans le métabolisme des protéiques.

En 1910, par la méthode au formol de SØRENSEN, nous avons établi que, dans toute la série animale, chez les invertébrés comme chez les vertébrés, les acides aminés sont des *constituants cellulaires*.

Toute une série de recherches, dont on trouvera le détail dans nos publications, nous a conduit à des conclusions très voisines de celles qui ont été soutenues plus tard et indépendamment par VAN SLYKE.

Elles peuvent être ainsi résumées :

1° On sait que, sous l'action des sucs protéolytiques (ou par digestion endocellulaire chez quelques invertébrés), les aliments protéiques sont transformés, en grande partie, en acides aminés, que l'on considère actuellement, depuis les belles recherches de SCHUTZENBERGER et de FISCHER, comme les pierres basales de la grosse molécule protéique.

Les acides aminés ainsi mis en liberté sont absorbés; ils passent dans le sang ou le liquide cavitaires et parviennent au niveau des cellules, où ils sont fixés et utilisés.

La nourriture azotée des cellules n'est donc pas représentée, comme on l'a cru pendant longtemps, par « l'albumine circulante », mais par les acides aminés dont la présence est constante dans les liquides du milieu intérieur, dans le sang des vertébrés comme dans le liquide cavitaires des invertébrés.

2° Les acides aminés « constituants cellulaires » peuvent être utilisés de diverses façons. Ils ont soit un rôle plastique, soit un rôle énergétique. Dans le premier cas, ils contribuent à la formation et à la réparation du protoplasma, qui est essentiellement constitué, comme on sait, par des matières albuminoïdes. Dans le deuxième cas, ils sont dégradés. Le noyau carboné est utilisé comme source d'énergie, alors que le groupe aminé est transformé et excrété.

3° Le foie des vertébrés et l'hépatopancréas des invertébrés paraissent jouer un rôle important dans l'utilisation de l'excès des acides aminés, provenant de la digestion, c'est-à-dire de ceux qui ne sont pas fixés et utilisés par les cellules.

Ces organes peuvent mettre en réserve ces acides aminés, par formation d'albumine de réserve, ou les utiliser après dégra-

dation comme source d'énergie (combustion du noyau carbone, formation de glycogène, etc.).

Cette conception du mécanisme intime des échanges azotés, qui a été acceptée par beaucoup de physiologistes, présente l'avantage d'être basée sur des faits. Elle aide à comprendre le double rôle, plastique et énergétique, de l'aliment protéique, qui se confond en définitive avec le double rôle fonctionnel des acides aminés « constituants cellulaires ».

Parmi les observations faites au cours de nos recherches, il en est une qui avait retenu plus particulièrement notre attention. Elle est à l'origine du présent travail.

Les organes des invertébrés (hépatopancréas, muscle) sont plus riches en acides aminés que les organes similaires des vertébrés. Ainsi, la quantité d'azote aminé que l'on trouve dans les cœcums d'*Asterias rubens*, dans l'hépatopancréas et le muscle de *Maja squinado*, dans le foie et le muscle de *Sepia officinalis*, etc., est considérable. L'azote aminé peut atteindre jusqu'à 20 0/0 de l'azote total.

Cette constatation, associée à la donnée classique que, chez les vertébrés, l'azote des acides aminés se retrouve finalement dans l'urine sous forme d'urée, nous a fait rechercher, parmi les déchets azotés des invertébrés, l'importance relative de l'urée d'abord, puis de l'ammoniaque, que l'on considère comme un terme intermédiaire entre le groupement aminé et l'urée.

Nos recherches bibliographiques sur ce point particulier nous ayant montré que les données chimiques exactes sont très rares et que, d'une façon générale, la question de l'excrétion azotée des invertébrés a été tout à fait négligée au point de vue biochimique, nous avons entrepris, depuis plusieurs années, une série de recherches.

Nous nous sommes placé à un point de vue différent de celui de la plupart de nos devanciers. Nous n'avons pas cherché à caractériser parmi les déchets azotés des invertébrés, des corps azotés nouveaux, encore inconnus chez les vertébrés, tels que l'acide carcinurique des Crustacés, nous nous sommes borné, en nous basant sur les faits définitivement

acquis pour les vertébrés, à chercher la réponse aux questions suivantes :

1° Dans quelle mesure retrouve-t-on, parmi les excréta des invertébrés, les principaux déchets azotés solubles des vertébrés, c'est-à-dire ceux qui forment la partie principale (90 0/0 environ) de l'azote urinaire.

2° Dans quelle mesure les données qui paraissent acquises pour les vertébrés sur l'origine et le mécanisme chimique de formation de ces déchets sont-elles exactes pour les invertébrés ?

Le problème ainsi posé est encore très vaste. Bien des recherches seront nécessaires pour lui donner une solution satisfaisante. Il nous est possible de dire cependant que, conformément à notre idée directrice, les déchets de l'amino-acidolyse représentent bien, chez les invertébrés comme les vertébrés, la majeure partie de l'azote excrété. C'est là une des conclusions fondamentales de ce travail.

Nos recherches ont été conduites de la façon suivante :

Après avoir mis au point, non sans difficulté, une technique précise de dosage, dans l'eau de mer, de très petites quantités d'urée, d'ammoniaque, d'azote aminé, d'azote purique, d'acide urique, nous avons dosé ces divers déchets azotés dans les *liquides d'excrétion*, c'est-à-dire, le plus souvent, dans les liquides où avaient séjourné quelque temps les animaux en expérience.

Chez quelques invertébrés supérieurs (*Maja squinado*, *Sepia officinalis*), il est possible de recueillir directement un liquide que l'on considère comme de l'urine; nous l'avons étudié avec soin.

Afin de connaître la valeur relative de l'azote des déchets qui ont été dosés, nous avons toujours déterminé dans les liquides l'azote total non protéique, et établi le pourcentage de chacun des éléments dosés.

Toutes choses égales, les mêmes dosages ont été effectués après désalbumination dans le *sang* et le *liquide cavitaire*.

Cette étude était nécessaire, car, comme on sait, les liquides du milieu intérieur ont une double fonction : celle d'alimenter et aussi celle d'épurer l'organisme. D'autre part, en comparant les résultats obtenus pour les liquides d'excrétion à ceux des liquides internes, on peut avoir d'utiles indications, non seulement sur le chimisme, mais aussi sur le mécanisme physiologique de l'excrétion.

En vue de rechercher l'origine des déchets azotés, nous avons poussé plus loin notre investigation. Nous avons cherché à saisir *in situ* les déchets azotés, en dosant ces corps dans l'extrait désalbuminé des organes frais (hépatopancréas, muscle, néphridies, etc.). Cette étude nous a donné des renseignements intéressants à ce sujet; elle nous a permis, en outre, de prendre part à des discussions souvent confuses sur la fonction excrétrice de certains organes.

Quoiqu'il ne soit pas certain que les actions chimiques qui se produisent au cours de l'autolyse soient identiques à celles qui se manifestent pendant la vie, nous avons dosé, toutes choses égales, par rapport aux organes frais, les déchets azotés contenus dans les organes soumis à l'autodigestion. Cette étude nous a donné, elle aussi, quelques indications précieuses sur l'origine de certains déchets azotés.

Enfin, les échanges azotés affectant, comme on sait, un rapport intime avec le échanges hydrocarbonés, puisque le noyau carboné de certains acides aminés peut aisément se transformer en glucose et en glycogène, nous avons été souvent conduits à doser le glycogène dans les organes frais, afin de rechercher s'il n'existait pas, chez les invertébrés, un certain rapport entre la formation de glycogène et l'uréogénèse.

Même ainsi limitées, nos recherches, commencées depuis plusieurs années, ont été très longues et très délicates. Bien qu'elles ne soient pas terminées, elles sont cependant assez avancées pour nous permettre d'en faire connaître les principaux résultats dont l'intérêt physiologique nous paraît évident.

La division de notre travail est la suivante :

Le chapitre premier comprend un aperçu historique de notre sujet. Le chapitre II est consacré à l'exposé détaillé de la

technique qui a été utilisée pour la récolte du matériel d'étude et le dosage des déchets azotés.

Dans le chapitre troisième, nous faisons l'exposé analytique des résultats obtenus par nos devanciers et par nous-même pour les divers invertébrés que nous avons étudiés. Nous avons suivi l'ordre zoologique, c'est-à-dire étudié successivement l'excrétion azotée des Echinodermes, des Vers, des Crustacés et des Mollusques.

Enfin, nous basant d'une part sur les faits déjà acquis et d'autre part sur les faits nouveaux que nous avons pu mettre en évidence, nous essayons, dans le dernier chapitre, par un examen critique de toutes ces données, d'en dégager la signification, au point de vue de la physiologie générale.

CHAPITRE PREMIER

APERÇU HISTORIQUE

En 1862, dans ses *Leçons sur la Physiologie et l'Anatomie comparée de l'homme et des animaux* (t. VII, p. 448), H. MILNE EDWARDS, étudiant la composition de l'urine des animaux invertébrés (paragr. 21), s'exprime ainsi : « Ainsi que j'ai déjà eu l'occasion de le dire, l'excrétion de l'acide urique a été constatée chez les Mollusques et les Insectes, mais nous ne savons encore que fort peu de chose sur les autres substances qui se trouvent dans l'urine de ces animaux.

« Chez les Insectes, les matières excrétées de la sorte affectent souvent la forme de petites concrétions et contiennent de l'acide urique libre, ainsi que des urates. M. SIRODOT y a trouvé aussi de l'oxalate de chaux.

« Les excréments des Scolopendres contiennent de l'urate d'ammoniaque, et par conséquent, l'acide urique doit être considéré comme un des produits de la sécrétion urinaire des Myriapodes.

« L'urine des Araignées paraît contenir de la guanine, et MM. GORUP-BESANEZ et WILL pensent que cette matière existe aussi dans les organes verdâtres de l'écrevisse, dont j'ai déjà eu l'occasion de parler comme étant peut-être des glandes urinaires.

« Les expériences chimiques dont les matières excrétées par les glandes rénales ou corps de Bojanus des Mollusques, ont été l'objet, nous ont appris qu'en général il y existe de l'acide urique; mais, chez quelques Acéphales, ce principe paraît manquer et être remplacé soit par de l'urée, ou par une substance qui s'en rapprocherait beaucoup, soit par de la guanine.

« Nous ne savons presque rien concernant la nature chimique des excréments, qui, suivant toute probabilité, représentent la sécrétion urinaire chez les Vers et chez les Zoophytes. »

H. MILNE EDWARDS distingue quatre formes principales de l'urine dans le règne animal : 1° l'*urine uréenne* sécrétée par l'homme, les mammifères omnivores et carnassiers et quelques autres vertébrés; 2° l'*urine hippurique* des Mammifères herbivores; 3° l'*urine urique*, fournie par les Oiseaux, la plupart des Reptiles, les Insectes; 4° l'*urine guanique*, qui paraît exister chez les Arachnides et quelques autres animaux invertébrés.

Dans son *Traité de Chimie physiologique comparée des animaux inférieurs* (1902), OTTO V. FURTH a exposé avec soin toutes les recherches déjà faites sur l'excrétion dans les divers groupes d'invertébrés. Il donne (p. 302) un aperçu sur la nature chimique des déchets azotés. « En ce qui concerne, dit-il, le chimisme de l'excrétion des animaux les plus inférieurs, on ne sait rien de précis. On pense avoir démontré la présence d'acide urique chez les Protozoaires, de guanine chez les Coelentérés et les Vers, mais les observations, à ce sujet, ne sont pas probantes. Chez les Echinodermes seulement, on arrive à une base plus sûre; déjà on trouve, chez ces êtres, de l'acide urique. Il est intéressant de constater, au point de vue biologique, que la dégradation de l'albumine dans l'organisme d'un être aussi peu organisé que le « seewalze », par exemple, paraît conduire finalement au même déchet que celui qui se forme dans le métabolisme d'un vertébré.

« Nous retrouvons encore de l'acide urique dans la classe des Mollusques, mais, fait curieux, il n'existe pas chez tous. Il existe seulement chez les Gastéropodes et les Céphalopodes; il paraît faire défaut régulièrement chez les Lamellibranches.

« Il n'est pas démontré que, chez ces êtres, l'acide urique soit remplacé par de la guanine; il semble, toutefois, que celle-ci puisse parfois remplacer, chez les Gastéropodes, la substance qui est transformée en acide urique.

« Chez les Céphalopodes, on n'a pas trouvé de guanine, mais une autre substance appartenant aux corps puriques, l'hypoxanthine, qui, avec l'ammoniaque et une autre substance acide de nature indéterminée, forme une notable partie de l'azote excrété.

« L'urée, dont on a signalé la présence chez les Lamellibranches et aussi chez d'autres Mollusques, chez plusieurs Arthropodes, n'a pas été trouvée chez les Céphalopodes, mais il est nécessaire de bien faire remarquer que, jusqu'ici, dans aucun cas, la preuve exacte de la présence d'urée chez un invertébré n'a été fournie.

« Dans la classe des Arthropodes, la présence d'acide urique n'est pas constante. Alors que l'acide urique est le produit principal d'excrétion des Insectes et des Myriapodes, il paraît faire défaut, d'une façon constante, pour les Crustacés, chez lesquels un corps particulier, l'acide carcinurique, doit jouer, avec la guanine, le rôle le plus important dans les échanges...»

L'auteur ne manque pas de signaler l'insuffisance de nos connaissances et d'exprimer l'espoir que là question soit reprise à l'aide de procédés d'investigation plus exacts.

On trouvera encore un exposé d'ensemble de la question dans les revues plus récentes et bien documentées de R. BURIAN, sur l'excrétion des Protozoaires, Cœlentérés, Echinodermes, Vers et Tuniciers (1910), de R. BURIAN et A. MUTH, sur l'excrétion des Crustacés (1914) et de J. STOLH, sur l'excrétion des Mollusques (1914), parues dans le *Traité de physiologie comparée* de HANS WINTERSTEIN. De la lecture de ces revues se dégage encore la même impression d'incertitude en ce qui concerne la question qui nous occupe.



Nous plaçant maintenant au point de vue chimique plutôt qu'au point de vue zoologique, il nous semble utile de faire

connaître les principaux travaux qui se rapportent exactement à notre sujet, c'est-à-dire ceux qui sont relatifs : 1° à la présence d'urée, d'ammoniaque, d'acide urique et de corps puriques dans l'organisme et les excreta des invertébrés; 2° à la valeur relative de ces corps parmi les déchets azotés; 3° à leur origine et au mécanisme de leur formation.

URÉE.

Chez la plupart des vertébrés (à l'exception des Oiseaux et des Reptiles), l'urée est le produit principal de la désassimilation des matières protéiques, puisque les huit dixièmes de l'azote de ces matières sont éliminés sous cette forme. Aussi bien, les recherches qui ont été faites pour déterminer l'origine et le mécanisme de formation de ce corps sont-elles très nombreuses. Il ne nous est pas possible d'en faire un exposé même sommaire; il nous suffira de dire qu'on admet actuellement que l'urée se forme en grande partie dans le foie, à partir des acides aminés et de l'ammoniaque, qu'elle passe dans le sang et est rapidement excrétée par le rein. Les fonctions, uréopoiétique et amino-acidolytique, du foie sont intimement liées. Ce point de vue, que j'ai soutenu en 1910, a été reconnu exact par VAN SLYKE.

Il est probable qu'une petite quantité d'urée se forme ailleurs que dans l'organe hépatique, mais les précisions manquent à ce sujet.

On sait aussi que, grâce à son grand pouvoir de diffusion, l'urée imprègne en quelque sorte tout l'organisme. On a pu aisément, en effet, à l'aide des techniques modernes, en effectuer le dosage, non seulement dans le sang, mais au sein des organes.

En ce qui concerne les invertébrés, nos connaissances sont très sommaires.

Nous avons vu qu'en 1903, OTTO V. FURTH estimait qu'aucune preuve évidente de la présence d'urée chez ces êtres n'avait encore été fournie. Dans un travail récent (1922), ST. J. PRZYLECKI a écrit : « C'est une opinion généralement admise par les physiologistes que les invertébrés n'excrètent pas

d'urée. » Il a été ainsi conduit à rechercher chez ces êtres la présence et la répartition de l'uréase.

Sans tenir compte des recherches anciennes, dont la valeur a été discutée à cause du peu de sensibilité des techniques qui étaient alors utilisées, il nous semble cependant que, depuis le travail de L. SANZO (1907), dans lequel le lecteur trouvera un bon exposé des recherches anciennes, depuis nos recherches sur les échanges azotés des invertébrés (1913), et surtout depuis les recherches de R. FOSSE (1913), la question peut être considérée comme résolue dans le sens affirmatif.

L. SANZO a utilisé la méthode à l'hypobromite de soude, qu'il a modifiée en vue de lui donner une sensibilité convenable. Afin d'éliminer toutes les substances autres que l'urée susceptibles de dégager de l'azote en présence d'hypobromite, il a fait subir à ses matériaux d'étude (sang, tissus et liquides viscéraux) un traitement approprié.

C'est ainsi que les liquides sont tout d'abord additionnés de leur volume d'alcool absolu, laissés au repos 12 à 24 heures et filtrés. Le filtrat alcoolique est concentré dans le vide à 40° jusqu'à très faible volume (4 à 5 ccm.). Ce liquide résiduel est traité par l'alcool absolu pour éliminer les sels minéraux susceptibles de gêner le dosage. Après filtration, le liquide est évaporé à siccité; le résidu est dissous dans l'eau distillée (10 ccm.). Afin de le débarrasser d'un grand nombre de substances azotées (ammoniaque, bases puriques, peptones, etc.), le liquide est traité par l'acide phosphotungstique. Le précipité PhW est éliminé par centrifugation. Le liquide clair qui contient l'urée est débarrassé de l'excès de réactif par addition de baryte, de l'excès de baryte par CO². L'azote titrable à l'hypobromite est enfin dosé à l'aide d'une uréomètre très sensible. La prise d'essai doit être telle que le volume d'azote dégagé ne soit pas inférieur à 0,5 ccm.

A l'aide de cette technique, L. SANZO a mis en évidence la présence constante de petites quantités d'urée dans le sang et les organes des invertébrés qu'il a étudiés. Dans le liquide cavitaire des Echinodermes, il a trouvé, en moyenne, pour 100 ccm., chez *Holothuria tubulosa* : 0,91 mgr.; chez *Sphære-*

chinus granularis : 3,29 mgr. Dans le sang de *Maja squinado* . 3,83 mgr.; de *Palinurus vulgaris*, 6,59 mgr. Le liquide péri-viscéral d'*Aplysia punctata* contient en moyenne 1,95 mgr.

La quantité moyenne d'urée contenue dans 100 gr. d'organe est plus considérable; elle varie suivant l'organe étudié. Voici quelques chiffres à ce sujet :

<i>Foie.</i> . .	<i>Aplysia punctata.</i> . .	13,01 mgr.
	<i>Sepia officinalis.</i> . . .	42,09 —
	<i>Palinurus vulgaris</i> . .	21,89 —
<i>Muscle.</i> .	<i>Loligo vulgaris.</i>	4,03 —
	<i>Palinurus vulgaris.</i> .	6,27 —

Chez les Mollusques et les Crustacés, l'urée est plus abondante dans le foie que dans les muscles. Le foie de la Seiche qui est carnivore est plus riche en urée que celui de l'Aplysie, qui est herbivore.

Sans être affirmatif, l'auteur pense que, chez les invertébrés, l'urée se forme dans le foie, comme chez les vertébrés.

Malgré toutes les précautions qu'il a prises, L. SANZO n'est pas absolument certain que le corps qu'il a dosé à l'hypobromite soit de l'urée. Le corps isolé a bien donné les réactions de l'urée (réaction de Lasseigne, etc.), mais la quantité obtenue n'a pas été suffisante pour l'analyse élémentaire.

La même réserve s'applique à mes recherches (1913). J'avais dosé, en effet, l'urée dans le sang ou le liquide cavitaires des invertébrés en utilisant la méthode à l'hypobromite modifiée par SANZO et établi le rapport de l'azote titrable à l'hypobromite à l'azote non protéique total. Le liquide cavitaires des Echinodermes ne contient qu'une petite quantité d'azote uréique. Pour 100 ccm :

Asterias rubens : 0,2 mgr. à 1,2 mgr.

Strongylocentrotus lividus : 0,4 mgr.

Dans le sang des Crustacés (*Maja squinado*), l'azote uréique est en quantité plus grande : 1,7 à 4,2 mgr. Le plasma de *Sipunculus nudus* contient 0,8 mgr. à 1,7 mgr., etc.

Le rapport de l'azote titrable à l'hypobromite à l'azote total non protéique est d'environ 31,5 pour l'Astérie, 13,6 pour le Siponcle, et de 12,5 pour l'Araignée de mer.

Si les recherches de L. SANZO, comme les miennes, peuvent être critiquées, puisqu'il n'est pas absolument démontré que l'azote titrable à l'hypobromite est bien de l'azote uréique, par contre celles de R. FOSSE (1913) ne laissent aucun doute, à mon avis, sur la présence constante d'urée dans l'organisme et les excréta des invertébrés.

Toutefois, l'auteur s'étant contenté de recherches qualitatives, ses résultats, quel que soit leur intérêt, ne permettent pas de répondre à une des questions qui nous intéresse : la part relative de l'urée parmi les déchets des invertébrés.

R. FOSSE a pu isoler l'urée grâce à sa combinaison spécifique avec le xanthidrol. Il a obtenu la combinaison dixanthylée avec les extraits alcooliques et les sucres cellulaires débarrassés des protéiques d'un grand nombre d'invertébrés terrestres ou marins : Etoile de mer, Sangsue, Ecrevisse, Langouste, Mouche, Escargot, Huître, Moule, etc. Il a pu aussi retirer la combinaison dixanthylée de l'eau de source ou de mer dans laquelle avaient vécu plus ou moins longtemps certains animaux.

La recherche et le dosage de l'urée par l'uréase n'a été effectuée jusqu'ici, à ma connaissance, que par R. G. MYERS (1920). Dans sa courte note, où les travaux antérieurs sont passés sous silence, l'auteur étudie la répartition de l'azote non protéique dans le sang de quelques invertébrés, et détermine en particulier le rapport de l'azote uréique à l'azote non protéique total.

Dans 100 cc. de sang d'Oursin, il a trouvé 0,92 mgr. d'azote uréique pour 8,6 mgr. d'azote non protéique (Rapport : 11 0/0). Dans le sang des Etoiles, le même rapport est variable (22 à 62 0/0). Il en est de même pour le sang des mollusques et du seul Crustacé (*Cancer productus*) que l'auteur a étudié. L'auteur conclut néanmoins que la valeur moyenne du rapport est de 10 à 20 0/0.

AMMONIAQUE

Chez les vertébrés, l'ammoniaque est présente dans tous les organes et dans le sang (NENCKI et PAWLOW, 1896; SALASKIN et ZALESKI, 1902). Il en est de même pour les invertébrés, ainsi que je l'ai déjà fait connaître (1910-1913). On admet que, chez

les vertébrés, elle est transformée en urée, dans toute la mesure où elle n'est pas utilisée pour la neutralisation des acides, si bien que, chez l'homme, à l'état normal, l'azote ammoniacal excrété représente seulement 2 à 5 0/0 de l'azote total urinaire, alors que l'azote uréique atteint et dépasse 80 0/0.

Il n'existe encore que peu de données précises sur l'excrétion ammoniacale des invertébrés. Cependant, l'idée de l'importance de cette excrétion n'a pas échappé à certains auteurs. C'est ainsi que R. BURIAN, dans son article sur l'excrétion des Vers, s'étonne que J. LESSER n'ait trouvé dans les liquides d'excrétion des Vers de terre que des traces d'ammoniaque, vu que non seulement chez les autres Vers (*Ascaris*, *Hirudo*), mais encore d'une façon générale chez les invertébrés, l'ammoniaque occupe quantitativement une place importante parmi les déchets azotés (Note p. 330).

Cependant, O. COHNHEIM (1901) a conclu de ses recherches chez les Echinodermes, que les Holothuries, les Astéries et les Ophiures n'excrètent pas d'ammoniaque.

Chez les Vers, J. LESSER n'a trouvé dans les excreta de *Lumbricus* que des traces d'ammoniaque. E. WEINLAND (1904) estime chez *Ascaris* que l'azote ammoniacal représente environ un tiers de l'azote total excrété.

A. PUTTER (1908) et K. BIALASZEWICZ (1919) ont étudié avec soin l'excrétion azotée de la Sangsue. L'azote de l'ammoniaque constitue 40 à 80 0/0 de l'azote excrété.

Pour les Céphalopodes, OTTO v. FURTH, étudiant l'urine d'*Octopus vulgaris*, estime que le rapport de l'azote ammoniacal est de 21 à 27 0/0.

Dans un récent travail (1922), qui a pour titre *L'excrétion ammoniacale chez les invertébrés dans les conditions normales et pathologiques*, ST. J. PRZYLECKI, après avoir signalé les grandes variations qui existent dans l'excrétion de NH_3 chez les invertébrés, en a recherché la cause. D'après ses recherches, l'ammoniaque aurait, chez les êtres, le même rôle de neutralisation que chez les vertébrés.

ACIDE URIQUE.

Parmi les déchets azotés, l'acide urique est un des plus intéressants. Dans la série des vertébrés, son excrétion, ainsi que son origine et son mécanisme de formation, ont été bien étudiés.

Dans l'urine de l'homme, le rapport de l'azote de l'acide urique à l'azote total est d'environ 1,5 à 2 0/0. Il diminue pour l'urine d'autres Mammifères (Chien, Chat, Lapin, Porc, Bœuf), par suite de la transformation de l'acide urique en allantoiné. Cette transformation est le fait d'une diastase oxydante, l'uricase, que l'on trouve surtout dans le foie.

Dans l'urine des Oiseaux et des Reptiles, l'acide urique tient la place qu'occupe l'urée dans l'urine des mammifères. 66 à 70 0/0 de l'azote total sont contenus dans l'acide urique et 8 à 18 0/0 dans l'ammoniaque, pour l'urine de l'Oie.

Le mécanisme de formation de l'acide urique n'est pas le même chez les vertébrés. Alors que chez les mammifères, il se forme *par oxydation* des corps provenant de la rétrogradation des nucléoprotéides, qui sont, comme on sait, les constituants essentiels des noyaux cellulaires; chez les Oiseaux et les Reptiles, il se forme surtout *par synthèse* dans le foie à partir de l'ammoniaque, produit de dégradation des albumines, et de l'acide lactique.

Chez les invertébrés, un assez grand nombre d'auteurs ont recherché sa présence, et quelques-uns seulement son origine.

Nous avons déjà vu que, depuis longtemps, la présence d'acide urique a été signalée dans les tubes de Malpighi des Insectes, l'organe de Bojanus des Gastéropodes, les organes urinaires des Céphalopodes. Dans ces organes, on trouve facilement, en effet, des concrétions cristallines, dont il est facile de reconnaître la nature urique à l'aide du microscope ou de réactions telles que celle de la murexide, très souvent utilisée.

Il n'en est plus de même pour les autres invertébrés, et la question de la présence ou de l'absence de ce déchet azoté est loin d'être résolue.

MARCHAL (1889), dans un important travail, a donné la

bibliographie complète des travaux parus sur la question et montré les contradictions de ses devanciers.

Il conclut de ses recherches et de celles déjà publiées, que l'acide urique n'a pu être découvert chez les Spongiaires, les Coelentérés, les Echinodermes et les Vers. Dans la classe des Arthropodes, la sécrétion de l'acide urique est à peu près générale chez les Insectes et les Myriapodes. Exceptionnelle chez les Arachnides, elle semble faire défaut chez les Crustacés. Dans la classe des Mollusques, la sécrétion de l'acide urique, générale chez les Gastéropodes pulmonés, est extrêmement rare chez les Acéphales. D'après l'auteur, lorsque la sécrétion de l'acide urique est nulle ou accessoire, elle est remplacée par un autre processus de désassimilation : « La désassimilation des substances albuminoïdes, dit-il, se fait alors sous forme de bases organiques, véritables alcaloïdes animaux (guanine, leucomaine, etc.). L'existence dans les produits de désassimilation de ces substances, qui nous ont été révélées par les belles recherches de A. GAUTIER, est donc un fait général et semble même un processus plus constant et plus important chez les invertébrés que chez les vertébrés. »

A. SULIMA (1913) a apporté une contribution importante à la question du métabolisme de l'acide urique des animaux inférieurs. Pour la recherche de l'acide urique dans l'organisme des invertébrés, il a employé deux procédés. Le premier consiste à dissoudre l'animal entier ou ses organes dans la plus petite quantité possible d'une solution bouillante de soude à 3 0/0. Le liquide, versé dans une fiole de 500 ccm., est additionné d'acide chlorydrique en excès et d'eau bouillante contenant de l'urée. Filtrer à chaud. L'acide urique est recherché dans le filtrat par la méthode de SALKOWSKI-LUDWIG modifiée. Le deuxième procédé est le suivant : on verse le matériel à étudier dans une grande quantité d'acide chlorydrique à 2 0 0, et l'on chauffe le tout pendant deux heures, après addition d'urée. L'acide urique est dosé dans le liquide après séparation par filtration de la partie insoluble. Il a pu ainsi reconnaître la présence d'acide urique chez *Anemonia sulcata* et *Microcosmus vulgaris*. Il n'a pu, par contre, déceler sa présen-

cè chez *Holothuria tubulosa*, *Stichopus regalis*, *Sipunculus nudus*, *Cardium tuberculatum* et *Mytilus edulis*.

En outre, chez quelques autres invertébrés, A. SULIMA a fait des recherches quantitatives intéressantes, afin de déterminer le mode de formation (par oxydation ou par synthèse) de l'acide urique.

Ayant constaté que le foie d'*Aplysia limacina* contient une quantité notable d'acide urique, l'auteur a soumis la bouillie de l'organe à l'autodigestion (digestion en présence de chloroforme à 39° pendant quelques heures). Il a constaté, dans ces conditions, une augmentation de l'acide urique. En ajoutant au macéré de l'asparagine, du glycocolle, du malonate de soude plus urée, il a constaté de même une forte augmentation, alors que l'addition de xanthine ne produit aucune plus-value. Il conclut que l'acide urique se forme dans le foie de l'Aplysie *par synthèse*, aux dépens des produits de la dégradation des protéiques, de la même façon que dans le foie des Reptiles et des Oiseaux.

Le foie de Poulpe ne contient pas trace d'acide urique. Que l'autodigestion du macéré de l'organe soit faite en présence d'oxygène ou non, il ne se forme pas d'acide urique. Le résultat est le même lorsqu'on ajoute au macéré du malonate de soude plus urée, du glycocolle ou de l'asparagine. L'auteur conclut que, dans l'organisme du Poulpe, il ne paraît pas se produire de l'acide urique, soit par oxydation, soit par synthèse. Il pense, comme BURIAN, que les concrétions uriques que l'on trouve dans l'urine proviennent vraisemblablement des dicyémides qui habitent l'organe urinaire.

L'hépatopancréas de *Maja squinado* contient une quantité notable d'acide urique. N'ayant pas eu à sa disposition une quantité suffisante de matériel, l'auteur n'a pu déterminer exactement son mode de formation. Il a vu toutefois que la quantité d'acide urique contenu dans le macéré d'organe augmente nettement lorsqu'il est soumis à l'autolyse. Il en est de même lorsqu'on ajoute au macéré, soumis trois heures à l'autodigestion, de l'asparagine, du malonate de soude plus urée, du glycocolle. Lorsque l'autodigestion est faite, en présence

de xanthine, dans les mêmes conditions, la teneur en acide urique n'augmente pas. L'acide urique se formerait donc surtout par synthèse.

Plus récemment, R. G. MYERS (1920), qui ne paraît pas avoir eu connaissance des recherches de A. SULIMA, est arrivé, en étudiant le sang des invertébrés, à la même opinion. Il a trouvé, en effet, dans le sang d'un Crabe (*Cancer productus*), une quantité d'acide urique (4,7 mgr. pour 100 ccm.), bien supérieure à celle des autres invertébrés qu'il a étudiés et même de l'homme (0,7 à 3,7 mgr. pour 100 ccm.). Il pense, d'après cette seule observation, que le métabolisme du Crabe est très voisin de celui des Reptiles et des Oiseaux.

Enfin, S. MORGULIS (1922) a dosé l'acide urique, ainsi que l'azote non protéique, dans le sang de quelques Crustacés. Le sang des Homards et des Araignées contient une quantité notable et assez fixe d'acide urique (2 à 3 mgr. p. 100 ccm.), alors que le sang d'autres crustacés (*Blue Crabs*) n'en contient que lorsque l'animal est en bon état de nutrition.

Il existe donc actuellement quelques données précises sur la présence et l'origine de l'acide urique, mais la question reste encore assez confuse et mérite d'être reprise.

PURINES

Nous avons vu que, chez l'homme, l'acide urique est formé par oxydation à partir des produits de dégradation des nucléines, en particulier des corps puriques. Sous l'action de diastases, les aminopurines (adénine, guanine) sont transformées en oxypurines (xanthine, hypoxanthine). Aussi la guanase (W. JONES et C. PARTRIDGE, 1904) est le ferment soluble qui transforme la guanine en xanthine; l'adénase (W. JONES et WINTERNITZ, 1905) transforme l'adénine en hypoxanthine. Enfin, par l'intermédiaire de diastases oxydantes, la xanthine et l'hypoxanthine se transforment en acide urique, qui est le produit principal de l'excrétion des purines chez l'homme. Alors que l'azote de l'acide urique représente, en effet, 1,5 à 2,0 0/0 de l'azote urinaire total, l'azote des bases puriques ne constitue environ que 0,3 0/0 (MAILLARD, 1908).

L'opinion que les corps puriques jouent un rôle très important dans l'excrétion des invertébrés a été souvent soutenue. Déjà, en 1862, H. LACAZE-DUTHIERS avait signalé chez ces êtres l'existence d'une *urine guanique*, et le nombre des auteurs qui ont trouvé de la guanine dans l'organisme des invertébrés est assez considérable.

Dans son article sur l'excrétion des Vers, R. BURIAN (p. 359), après avoir signalé l'existence très fréquente de granulations puriques dans les organes excréteurs des Annelides (nephridies, tissus excrétophores) remarque, au point de vue de la physiologie générale, que, vu la quantité importante des « purin-granula », il est difficile d'admettre que ces produits d'excrétion proviennent de la dégradation des nucléoprotéides. Il pense que ces granulations ont plutôt pour origine une transformation par synthèse des produits de la dégradation des protéiques, qu'elles se formeraient, somme toute, par un processus analogue à celui que nous avons déjà rencontré pour la formation de l'acide urique dans le foie des Reptiles et des Oiseaux.

S'il n'est pas douteux que l'organisme de certains invertébrés est souvent imprégné par des déchets de nature purique et que, comme pour les vertébrés inférieurs (J. MILLOT, 1923), leur pigmentation a souvent pour origine un dérivé purique, ces observations ne permettent pas, toutefois, de conclure, comme tendent à le faire certains auteurs, à une excrétion purique principale des déchets azotés.

Les résultats obtenus par la recherche des bases puriques dans les organes, par voie chimique ou histochimique (Réaction de COURMONT et ANDRÉ, de CIACCO, d'ACHUCARRO) permettent, peut-être, de conclure à la fonction excrétrice de l'organe étudié, mais ils ne nous renseignent pas exactement sur l'importance relative de l'excrétion purique. Les corps puriques, en effet, y compris l'acide urique, sont bien moins solubles que les autres déchets azotés; ils peuvent s'accumuler aussi bien « par défaut d'excrétion » que par « excès de formation ».

Aussi bien, nous plaçant surtout au point de vue physiologique, nous ne rapporterons que les rares recherches faites sur

la teneur en N purique des excreta solubles ou insolubles des invertébrés.

Chez les Echinodermes, je n'ai trouvé à ce sujet aucun renseignement; chez les Vers, J. LESSER n'a pas trouvé, dans les excreta des Vers de terre, une quantité dosable d'azote purique. PUTTER, analysant l'eau dans laquelle avaient vécu 300 Sangsues pendant 100 heures, a trouvé dans le liquide, débarrassé du mucus, 1,4 mgr. d'N purique pour 80 mgr. d'N total.

Chez les Mollusques, dans l'urine d'*Octopus vulgaris*, OTTO v. FURTH (1900) a signalé la présence d'hypoxanthine. Il évalue à 0,08 gr. environ l'hypoxanthine contenue dans un litre d'urine, c'est-à-dire une quantité qui dépasse notablement la quantité de bases puriques contenues dans l'urine des mammifères.

Chez les Crustacés, dans l'urine de *Maja squinado*, MARCHAL a trouvé une substance qui présente quelques-unes des réactions des corps xanthiques, mais qui en diffère par son acidité, à laquelle il a donné le nom provisoire d'« acide carcinurique ».

L'exposé sommaire qui vient d'être fait aurait pu recevoir de plus amples développements, sans grand bénéfice toutefois, puisque nous aurons l'occasion, à propos de nos recherches personnelles, de faire, pour chaque invertébré, l'exposé des recherches antérieures. Il suffit à bien mettre en évidence non seulement l'insuffisance de nos connaissances actuelles, mais encore toute la complexité de la question.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

I. — Animaux étudiés

Grâce à la proximité de la Station Biologique d'Arcachon, et surtout au dévouement de son personnel, la récolte de nos matériaux d'étude s'est faite dans de bonnes conditions. Chaque fois que cela a été utile, nos observations et nos expériences ont pu être faites aussitôt après la capture des animaux.

Nous avons choisi de préférence les espèces communes, afin de pouvoir plus facilement vérifier nos résultats et aussi de pouvoir, le cas échéant, étendre les recherches.

Les espèces étudiées ont une alimentation très différente. Les unes (Astérie, Seiche, Sangsue, etc.), sont essentiellement carnivores; d'autres sont herbivores (Aplysie, Escargot, Limace); d'autres se nourrissent des matériaux nutritifs contenus dans le sable et la terre (Holothurie, Siponcle, Ver de terre, etc.); d'autres, enfin, comme les Lamellibranches, trouvent leur alimentation dans les matières en suspension dans l'eau de mer.

La plupart sont des espèces marines, mais quelques-unes sont terrestres.

Voici le nom de ces diverses espèces :

1° ECHINODERMES :

Astérias rubens L.

Paracentrotus lividus LAMARCK;

Holothuria tubulosa GMELIN.

2° VERS :

Sipunculus nudus L.

Aphodite aculeata L.

Hirudo officinalis L.

Lumbricus agricola HOFFM.

3° CRUSTACÉS :

Maja squinado ROND.

Carcinus mœnas L.

Astacus fluviatilis ROND.

4° MOLLUSQUES :

A) Lamellibranches :

Gryphœa angulata LAMARCK.

Mya arenaria L.

Mytilus edulis L.

B) Céphalopodes :

Sepia officinalis L.

C) Gastéropodes :

Aplysia limacina L.

Helix pomatia L.

Limax agrestis L.

II. — Récolte des matériaux d'étude.

A. — RÉCOLTE DES DÉCHETS AZOTÉS SOLUBLES, ÉVACUÉS DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR.

Chez les vertébrés supérieurs, cette récolte ne présente aucune difficulté. L'urine, en effet, que l'on peut recueillir aisément et en abondance, contient la presque totalité des déchets

azotés. La quantité des matériaux azotés de désassimilation, qui est excrétée par la voie intestinale est si peu importante que, pratiquement, l'étude des constituants azotés de l'urine suffit à renseigner sur la désassimilation azotée.

Chez quelques invertébrés supérieurs seulement, il est possible de recueillir un liquide que l'on considère comme analogue à l'urine des vertébrés. Dans quelles proportions renferme-t-il les excréta azotés ? Il est difficile de le dire. Quoi qu'il en soit, chaque fois que cela a été possible, nous l'avons recueilli et analysé avec soin.

Pour récolter l'urine de *Maja squinado*, je me suis servi, avec quelques modifications, du procédé qui a été donné par P. MARCHAL (1892).

L'animal étant renversé et maintenu par un aide, on soulève avec des pinces l'opercule mobile comme une charnière, qui recouvre les canaux d'excrétion. L'on y introduit doucement et peu profondément une petite canule en verre à bords rodés, s'adaptant exactement à l'ouverture. Le liquide monte de lui-même dans la canule, car il est contenu sous faible pression dans la vessie. La canule ne doit pas être enfoncée profondément, sinon on risque de perforer la cavité générale et de récolter de l'urine mélangée à beaucoup de sang, ce dont on est averti par l'aspect et la coloration du liquide.

A l'aide d'un petit raccord en caoutchouc, la canule est reliée à une seringue de 10 ccm. Il suffit d'aspirer peu à peu pour vider la vessie. On vide de même l'autre vessie.

Ainsi que l'avait déjà signalé P. MARCHAL, on obtient en quantité assez abondante (10 à 15 ccm. pour une *Maja* de 500 gr.) un liquide clair comme l'eau de mer, qui ne contient, le plus souvent, que quelques éléments en suspension. Cependant, à Noirmoutiers, en recueillant l'urine de douze animaux qui avaient séjourné quelque temps dans les bacs de l'Herbau-dièrre, j'ai retiré, à deux reprises, un liquide coloré en vert. Je signale simplement le fait, n'ayant pas eu assez de liquide pour faire des recherches.

La récolte faite, on introduit aussitôt dans le liquide des cristaux d'acide trichloracétique (1 gr. pour 100 ccm.), et l'on

agite fortement. L'albumine que contient le liquide en petite quantité se précipite peu à peu. Lorsque le précipité est bien formé, on filtre et l'on ajoute ensuite au filtrat acide un peu de chloroforme pour assurer sa conservation.

Pour recueillir le liquide urinaire de *Sepia officinalis*, il est utile, pour avoir une bonne récolte, d'opérer sur des animaux de grande taille. L'animal vivant est placé sur sa face dorsale et maintenu par un aide. On ouvre la cavité palléale en incisant largement le manteau sur la ligne médiane. On découvre entièrement la masse viscérale en réclinant les bords du manteau. A droite et à gauche du rectum apparaissent les deux orifices des glandes urinaires. Une très petite incision est faite au dessous de l'un de ces orifices, par laquelle on introduit dans les volumineux sacs urinaires l'extrémité d'un compte-gouttes. Il est facile de retirer par aspiration le liquide qu'ils contiennent (2 à 6 ccm. pour une Seiche de moyenne taille). Ce liquide, souvent trouble, contient en suspension, comme l'a depuis longtemps signalé Paul BERT (1867), des cristaux d'un beau rouge.

Au contact de l'air, il reste incolore ou blanchâtre. S'il est mélangé à un peu de sang, il bleuit et doit être rejeté.

Assez riche en albumine, comme l'avaient déjà signalé Paul BERT, OTTO v. FURTH, nous l'avons dilué de moitié avant de le désalbuminer, dans les mêmes conditions que pour l'urine précédente.

Pour tous les autres invertébrés étudiés, la récolte directe d'un liquide urinaire n'a pas été possible. D'ailleurs, chez presque tous, l'excrétion est très diffuse; plusieurs organes y participent, si bien que, pour capter les déchets, il faut avoir recours à une méthode indirecte.

Nous avons utilisé la seule technique possible, qui, d'ailleurs, entre les mains d'autres auteurs (R. FOSSE, J. LESSER, PUTTER), a déjà donné des renseignements intéressants. Il faut cependant prendre beaucoup de précautions pour éviter les causes d'erreur.

Elle consiste à placer les animaux marins dans un cristalli-

soir et à les faire vivre quelque temps sous une mince couche d'eau de mer ou d'eau douce, souvent renouvelée.

Le renouvellement de l'eau (toutes les 8 heures environ) empêche le contact prolongé de l'animal avec ses excréta. D'autre part, la faible épaisseur de la couche d'eau assure une plus grande surface de contact avec l'air, c'est-à-dire une aération maxima. Dans ces conditions, les animaux vivent bien et longtemps.

Même ainsi conduites, nos expériences ne sont pas à l'abri de critiques. Plusieurs causes d'erreur peuvent en vicier les résultats, dont il y a lieu d'examiner maintenant l'importance.

La première est relative à l'altération possible sous l'action de microorganismes, des déchets azotés évacués par l'animal, en particulier la transformation de l'urée en ammoniacque.

Nous nous sommes assuré, par des expériences témoins, qu'à la température où ont été faites nos recherches (15° au maximum), l'urée n'est pas transformée. On dissout une petite quantité d'urée (10 mgr.) dans 500 ccm. d'eau de mer, et l'on plonge dans cette eau, pendant quelques minutes, les animaux d'étude. L'eau, conservée à 15°, renferme encore, après 24 heures, l'urée qui a été ajoutée.

La deuxième cause d'erreur est plus difficile à éviter. L'eau dans laquelle ont vécu les animaux contient, en effet, non seulement les véritables déchets azotés, c'est-à-dire ceux qui proviennent du fonctionnement cellulaire, mais aussi les corps azotés d'origine alimentaire, qui n'ont fait que traverser le tube digestif, sans être absorbés.

Ces derniers sont d'ailleurs mélangés à de vrais déchets d'origine intestinale, car la fonction excrétrice de l'intestin des invertébrés paraît avoir une importance plus grande encore que celle des vertébrés.

Cette cause d'erreur est surtout à prendre en considération pour les animaux qui absorbent une grande quantité de sable ou de terre pour s'alimenter. On peut l'éviter dans une certaine mesure par l'étude comparée des liquides d'excrétion

des animaux en pleine digestion et des animaux laissés à jeun un temps suffisant pour que leur intestin soit vidé.

Enfin, une troisième cause d'erreur reste à examiner : dans quelle mesure l'azote excrété sous forme volatile (ammoniacale, amines) peut-il être entraîné dans l'atmosphère et échapper ainsi à l'analyse chimique ?

Nous nous sommes assuré que la très petite quantité d'ammoniacale excrétée en huit heures reste entièrement dissoute dans le liquide qui n'est pas agité et dont la température ne dépasse pas 15°.

Aussitôt après avoir été recueillis, les liquides sont filtrés, puis acidifiés par addition de cristaux d'acide trichloracétique (1 gr. pour 100 ccm.) et agités. Il se produit un trouble plus ou moins intense dû à la présence de traces d'albumine, dont il est difficile de connaître l'origine. Elle peut aussi bien provenir de la peau de l'animal (mucus, etc.) que d'une excrétion de l'albumine plasmatique.

Le liquide, abandonné au repos quelque temps, est filtré jusqu'à obtention d'un filtrat clair et limpide, qui est additionné de chloroforme pour assurer sa conservation.

La récolte des déchets azotés de certains invertébrés terrestres (Gastéropodes pulmonés, Vers de terre) diffère un peu de celle des invertébrés marins, dont nous venons de parler.

Les animaux, bien lavés, sont placés dans un cristalliseur contenant seulement quelques ccm. d'eau de source. Ils sont lavés toutes les huit heures environ, afin d'entraîner les excréta. Les liquides recueillis sont traités comme il a été déjà dit.

Pour abréger, nous appellerons ces divers liquides : liquides d'excrétion.

B. — RÉCOLTE DES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LES LIQUIDES DU MILIEU INTÉRIEUR.

Nous avons déjà signalé la difficulté de distinguer dans les liquides d'excrétion les véritables déchets azotés des matériaux d'origine alimentaire évacués par l'intestin. Il n'en est plus de

même pour les excréta contenus dans le sang ou le liquide cavitare, de telle sorte que, qualitativement tout au moins, l'étude chimique de ces matériaux donnera des renseignements complémentaires utiles, sinon indispensables, au point de vue chimique.

Au point de vue physiologique, l'étude comparative des déchets azotés contenus dans les liquides cavitaires et les liquides d'excrétion n'est pas moins intéressante. Elle permet, en effet, d'aborder un problème du plus haut intérêt biologique, sur lequel il n'existe encore que bien peu de documents, celui de la puissance de sélection élective et de concentration des appareils excréteurs des invertébrés.

La récolte des déchets comprend deux opérations distinctes :

1° La récolte du sang ou du liquide cavitare;

2° La préparation des liquides désalbuminés.

Je serai bref en ce qui concerne le premier point, car j'ai déjà indiqué; en 1913, la technique utilisée pour recueillir chez quelques invertébrés les liquides du milieu intérieur.

Le liquide cavitare des Astéries est obtenu facilement par section de l'extrémité d'un bras, l'animal étant placé verticalement au-dessus d'un verre à pied; celui des Oursins, par section de la membrane péribuccale; celui des Holothuries, par incision du tégument, en évitant soigneusement toute lésion du tube digestif.

Le liquide des Vers (Siponcle, Aphrodite) s'écoule par incision du tégument dans une région où l'on ne risque pas de léser l'intestin.

Pour recueillir le sang de l'Araignée de mer, on brise une des dernières pattes. Après l'autotomie on introduit une canule en verre dans la plaie. Le sang de Seiche a été recueilli à l'aide d'une petite canule en verre introduite dans l'artère dorsale. Le sang d'Escargot est recueilli au niveau du cœur, chez l'animal débarrassé en partie de sa coquille, après incision du péri-carde. Nous avons aussi recueilli l'eau des Huîtres, etc.

Aussitôt après avoir été recueillis, les liquides sont filtrés ou

centrifugés, pour les débarrasser des éléments figurés en suspension. Le plasma ainsi obtenu est désalbuminé par l'acide trichloracétique.

Lorsque les liquides contiennent peu d'albumine, la désalbumination est faite comme pour les liquides d'excrétion (addition directe de cristaux d'acide trichloracétique, etc.).

Lorsque le plasma est chargé d'albumine, il est dilué de moitié avant la désalbumination. Les filtrats acides, qui doivent être clairs et limpides, sont additionnés d'une petite quantité de chloroforme, pour assurer leur conservation.

Dans quelques cas, nous avons préparé l'extrait désalbuminé du liquide total (plasma et éléments figurés). Ces cas particuliers seront signalés à leur place.

C. — RÉCOLTE DES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LES ORGANES FRAIS ET AUTOLYSÉS.

1° *Organes frais.* — Aussi souvent que possible, les extraits désalbuminés des organes (hépatopancreas, muscle, glande génitale, néphridie, etc.), ont été préparés immédiatement après le sacrifice de l'animal. Toutefois, lorsque les circonstances ne nous ont pas permis de faire sur place les manipulations, nous avons conservé les organes en les fixant dans une quantité suffisante d'alcool à 90° bouillant, la désalbumination étant pratiquée ensuite le plus tôt possible. La nécessité de fixer l'organe dans de l'alcool bouillant nous est apparue dès nos premières recherches. Certains organes, en effet, riches en diastases protéolytiques (foie de Seiche, par exemple), sont capables de s'autolyser en milieu alcoolique.

Pour la préparation de l'extrait désalbuminé, il suffit d'avoir à sa disposition un mortier en porcelaine, du sable lavé, de l'eau distillée bouillante, une solution d'acide trichloracétique à 20 0/0 et une série de fioles jaugées.

Soit un organe qu'il est facile d'avoir en quantité (hépatopancreas de Crustacé, par exemple), les manipulations sont les suivantes :

Avant d'être pesé, l'organe est essoré avec du papier filtre.

On en pèse 8 grammes que l'on introduit dans le mortier avec du sable lavé. On broye le plus finement possible, puis on verse une petite quantité d'eau bouillante. Agiter, laisser déposer et décantier le liquide surnageant. On broye de nouveau, puis on verse de l'eau bouillante, etc. Ces opérations sont renouvelées jusqu'à épuisement total des matières solubles. Il ne doit finalement rester dans le mortier qu'un résidu insoluble. Les liquides, qui ont été versés dans un grand verre à expérience, au fur et à mesure de la décantation, sont introduits dans une fiole jaugée de capacité suffisante (200 ccm.) et l'on ajoute 20 ccm. de la solution d'acide trichloracétique à 20 0/0. Agiter, compléter à 200 ccm. après refroidissement, et filtrer. 25 ccm. du filtrat contiennent les déchets azotés de 1 gr. d'organe.

Le plus souvent, le filtrat est clair et limpide. Il ne doit pas contenir d'albumine. Pour s'en assurer, on verse dans un tube à essai 5 ccm. du filtrat et 10 gouttes de réactif de TANRET. Le liquide, porté à 100°, doit rester clair et limpide. Lorsqu'il contient des peptones, il se trouble par refroidissement.

Malgré des filtrations répétées, certains extraits, qui ne contiennent pas d'albumine, restent plus ou moins troubles. Il en est ainsi lorsqu'ils contiennent beaucoup d'albumoses ou de peptones. Ces corps s'insolubilisent en partie et forment à la longue un léger dépôt dont il est facile de reconnaître la nature par la réaction du biuret.

Les extraits désalbuminés des organes riches en glycogène présentent une opalescence tout à fait caractéristique.

Suivant les cas, quelques modifications de détail ont dû être faites à la technique.

Ainsi, l'épuisement du muscle est assez difficile, et la quantité d'eau nécessaire pour l'épuiser est plus grande, de telle sorte que l'extrait désalbuminé est moins concentré.

Il arrive souvent que, même en sacrifiant de nombreux animaux, on ne puisse obtenir qu'un gramme et même moins d'organe. Les manipulations restent les mêmes, toutes choses égales, etc.

Chez quelques invertébrés très petits, nous avons seulement préparé l'extrait désalbuminé de l'animal entier, ce qui nous a permis de prendre rapidement une vue d'ensemble des déchets azotés de l'animal.

La préparation des extraits, à partir des organes fixés dans l'alcool, ne présente rien de particulier, si ce n'est qu'avant le broyage l'alcool est décanté, versé dans une petite capsule de porcelaine, acidifié légèrement avec de l'acide acétique dilué, pour éviter le dégagement d'ammoniaque, et évaporé à 60°. Le résidu repris par l'eau chaude est ajouté aux liquides de décantation.

Avant de terminer ce paragraphe, il nous reste à dire que, quelquefois, nous n'avons pu peser l'organe, ce qui ne nous a pas permis de rapporter les résultats à 100 grammes. Les rapports gardent cependant leur intérêt.

2° *Organes autolysés.* — L'autolyse terminée, la préparation de l'extrait est faite comme celle des organes frais. Le seul point que nous avons donc maintenant à préciser est relatif aux conditions dans lesquelles a été faite l'autolyse.

Nous n'avons pas étudié les divers facteurs susceptibles de modifier l'autolyse, c'est-à-dire l'action de l'aération, des conditions de milieu, des sels, de la température, etc. Quel que soit l'intérêt de cette question, son étude dépasse le cadre de nos recherches.

Les conditions dans lesquelles a été faite l'autodigestion des organes étudiés ont été les suivantes :

L'organe pesé (5 à 10 gr.) est placé dans un petit vase cylindrique de Bohême (50 cm.) stérilisé, dans lequel on verse 10 cm. environ d'eau de mer ou d'eau salée physiologique, suivant que l'invertébré est marin ou terrestre. Après addition de chloroforme (1 à 2 cm.) et agitation, le vase est bouché à l'ouate puis avec un capuchon de caoutchouc, et porté à l'étuve à 38° pendant 24 heures. Dans quelques cas, qui seront signalés, l'autolyse a dû être faite à la température du laboratoire.

III. — Recherches chimiques

Nous préciserons avec soin les détails de la technique chimique qui a été utilisée, car c'est d'elle, en définitive, ainsi que de la technique déjà étudiée, relative à la récolte des déchets azotés, que dépend la valeur des faits nouveaux qui seront mis en évidence, sur lesquels sont basées en grande partie nos conclusions.

Les analyses ont porté presque exclusivement sur les matières azotées contenues dans les divers liquides désalbuminés. Toutefois, nous avons dosé aussi, assez souvent, l'azote total (protéique et non protéique) et le glycogène contenus dans les organes frais.

A. — DONNÉES GÉNÉRALES; ESSAIS PRÉLIMINAIRES.

Dans les liquides d'excrétion et dans les liquides cavitaires, il n'est pas aisé de déterminer avec précision la répartition de l'azote non protéique, et d'établir ainsi le rapport de chaque corps azote dosé à l'azote total. C'est vraisemblablement pour cette raison que R. G. MYERS (1920) a signalé dans le sang de certains invertébrés une variation considérable du rapport de l'azote uréique à l'azote total. Par exemple, chez les Astéries, ce rapport variait de 22 à 62 0/0, etc.

Etant donnée la très petite quantité d'azote contenue dans 100 cc. de liquide cavitare désalbuminé (4 à 12 mgr.) et la quantité encore plus faible contenue dans les liquides d'excrétion (0,5 à 2,0 mgr.), il est évident que les moindres causes d'erreur ont une importance considérable, d'autant plus que les corps azotés sont dissous le plus souvent dans de l'eau de mer, très riche en sels minéraux qui peuvent gêner les dosages.

Aussi, avant de commencer notre étude, nous avons dû mettre au point une technique adaptée à nos recherches.

Dans ce but, nous avons fait de longs et nombreux essais préliminaires, sur le détail desquels il nous paraît inutile d'insister. En voici le principe : une même urine (5 ccm.) est diluée à 200 ccm., d'une part, avec de l'eau distillée, d'autre part,

avec de l'eau de mer; on essaye comparativement sur les deux liquides les méthodes microchimiques actuellement en usage pour le dosage des constituants de l'azote non protéique du sang; la technique est modifiée jusqu'à obtention de résultats satisfaisants.

L'idée directrice qui nous a guidé dans ces recherches est la suivante : opérer le plus possible le dosage des divers corps azotés « toutes choses égales », c'est-à-dire avec une même liqueur titrée afin d'obtenir la plus grande sécurité dans l'établissement des rapports.

Finalement, nous avons adopté la méthode au formol, déjà recommandée par RONCHÈSE, qui nous a permis de réaliser cette condition dans une large mesure, puisque, à l'exception de l'azote de l'acide urique, qui a été dosé colorimétriquement, nous avons pu titrer au formol l'azote de tous les autres corps azotés, soit directement, soit après isolement et transformation de leur azote en ammoniac par la méthode de KJELDHAL.

B. — DOSAGE AU FORMOL DE TRÈS PETITES QUANTITÉS D'AZOTE AMMONIACAL (0.03 à 3.0 MGR.).

Pour transformer la méthode de titration au formol en méthode microchimique, il est nécessaire de lui faire subir quelques modifications en vue de la sensibiliser.

Le matériel est le suivant: 1° une microburette de 5 ccm., dont chaque ccm. est divisé en 20 parties; 2° une solution de baryte titrée, dont 1 ccm. correspond exactement à 0,3 mgr. d' N ; 3° une solution de formol purifiée et exactement neutralisée; 4° une solution alcoolique de phtaléine du phénol à 1 0/0.

La purification préalable de la solution commerciale de formol est très utile, car, si l'on emploie directement la solution commerciale neutralisée par de la baryte, les impuretés qu'elle contient provoquent souvent un trouble qui gêne le dosage. Dans ce but, on verse dans un litre de la solution commerciale 10 ccm. de phtaléine, un peu de chlorure de baryum pulvérisé, et de la baryte en poudre en quantité suffisante pour obtenir

la teinte rouge. Le liquide est agité et laissé au repos quelques heures. Il se forme un précipité dont on se débarrasse par filtration. Le filtrat est ramené à la décoloration par addition de quelques gouttes d'HCl N. S'il se forme, avec le temps, un dépôt, on s'en débarrasse par décantation. Avant son emploi, la solution de formol doit être claire et limpide, le virage à la teinte rose doit se faire nettement, à une goutte près de solution de baryte titrée.

La liqueur titrée de baryte est préparée de la façon suivante .

On part d'une solution d'oxalate pur d'ammoniaque, contenant 0,3 mgr. d'N pour 1 ccm., obtenue en dissolvant 1 gr. 522 d'oxalate dans un litre d'eau distillée, et d'une solution diluée de baryte (N/45 environ).

Dans un ballon de 200 ccm., on introduit 5 ccm. de la solution d'oxalate, 20 ccm. d'eau distillée, et 1 ccm. de lessive de soude. On distille et l'on recueille tout l'ammoniaque dans 2 à 3 ccm. d'HCl N/20 contenus dans un bécher de 100 cc. (forme haute). La distillation terminée, on titre l'ammoniaque au formol, après neutralisation exacte.

Dans ce but, on ajoute au liquide X gouttes environ de phtaléine, puis, par petites affusions, de la baryte saturée (contenue dans un compte-gouttes Auché) jusqu'à teinte rouge. On revient juste à la décoloration avec quelques gouttes d'HCl N/20. Pour avoir une neutralisation exacte (à une goutte près), on verse quelques gouttes de la solution de baryte à titrer contenue dans la microburette, jusqu'à obtention d'une légère teinte rose, qu'il est facile de saisir sur fond blanc, à la lumière du jour.

Dans la solution exactement neutralisée, contenant l'ammoniaque sous forme de chlorydrate, on verse un excès (5 à 10 ccm.), de la solution purifiée de formol, qui a été exactement neutralisée de la même manière; on verse ensuite peu à peu en agitant la solution de baryte à titrer, contenue dans la burette. On note exactement le volume de baryte employé pour l'obtention d'une teinte rose nette. Soit 4,5 ccm. par exemple.

Pour obtenir la solution titrée de baryte correspondant, volume à volume, à la solution d'oxalate d'ammoniaque, il suffira, comme on sait, de diluer convenablement la solution de baryte et de contrôler la dilution par un nouveau dosage.

Nous avons un peu insisté sur les détails de cette titration, car, somme toute, tous nos dosages au formol, à l'exception, toutefois, de celui de l'azote aminé, ont été effectués de la même façon.

La plupart d'entre eux ont été effectués après transformation en ammoniaque de l'azote du composé étudié, par la méthode de KJELDAHL. Dans ces conditions, pour cette méthode comme pour les autres, il est indispensable de s'assurer, au préalable, de la pureté des réactifs (acide sulfurique, lessive de soude) qui doivent être exempts d'ammoniaque.

A côté de cette cause d'erreur, il en existe une autre qui est inhérente à la méthode au formol, mais qu'il est facile d'éviter.

On sait, en effet, que les sels d'ammoniaque agissent sur la phénolphthaléine en retardant l'apparition de la teinte rose, d'où une légère erreur par défaut. Si l'on prend soin de ne titrer au formol que des quantités d'azote égales ou inférieures à 10 ccm. de baryte titrée, la cause d'erreur est négligeable. Pour les quantités de baryte supérieures à 5 ccm., il est d'ailleurs facile, en suivant les indications de RONCHÈSE, c'est-à-dire en ajoutant 0,1 ccm. pour 3 ccm. de liqueur titrée, d'avoir le chiffre exact. En pratique, nos prises ont été telles que la quantité de baryte titrée utilisée n'a pas dépassé 10 ccm.

En résumé, avec quelques modifications, la méthode au formol permet de doser avec précision de très petites quantités d'azote.

G. — DOSAGE DE L'AZOTE NON PROTÉIQUE TOTAL.

Ce dosage comprend : 1° la transformation en ammoniaque de l'azote des divers corps azotés par la méthode de KJELDAHL; 2° le titrage au formol de l'ammoniaque après distillation .

Pour la première opération, on introduit dans un ballon KJELDAHL (Pyrex) de 200 ccm. une quantité du liquide étudié

variable suivant sa richesse en azote (25 ccm. pour les liquides cavitaires et d'excrétion — 2,5 ccm. pour les extraits désalbuminés d'organes) et 5 ccm environ d'un mélange à parties égales d'acide sulfurique pur et de solution à 1 0/0 de sulfate de cuivre. On chauffe pendant une durée qui ne doit pas être inférieure à deux heures après la décoloration. S'il arrive que, pendant l'opération, le contenu du matras se prenne en masse, on ajoute, après refroidissement, 5 ccm. du mélange et l'on chauffe de nouveau.

Le liquide sulfurique, après refroidissement, est ensuite additionné d'eau distillée (20 ccm.), de phtaléine, et refroidi de nouveau. On ajoute ensuite de la lessive de soude, en léger excès (1 ccm. environ), le matras étant immergé dans un cristalliseur rempli d'eau froide. Par distillation, on isole l'ammoniaque, qui est recueillie dans quelques ccm. d'HCl N/20 et titrée au formol. Nous avons toujours poursuivi la distillation jusqu'à l'apparition de soubresauts. Dans les liquides très riches en sels minéraux, ils apparaissent de bonne heure; aussi est-il bon d'augmenter la quantité d'eau distillée (40 ccm.).

Par le même procédé, avec quelques modifications, nous avons dosé ainsi l'azote total (protéique et non protéique) des organes ou des liquides.

Pour les organes, on pèse 250 mgr. que l'on introduit dans le ballon avec 5 ccm. du mélange sulfurique. Les opérations sont les mêmes, mais la quantité d' NH_3 étant plus grande, est recueillie dans HCl N/2. La solution est diluée d'une façon convenable, à 50 ou à 100 ccm., dont on prélève seulement une partie (10 ccm.) pour le titrage au formol.

D. — DOSAGE DE L'AZOTE DU FILTRAT ET DU PRÉCIPITÉ Ph W.

L'acide phosphotungstique est un réactif qui a été très utilisé en chimie physiologique, pour la séparation des diverses matières azotées.

PFLAUNDLER, le premier, l'a utilisé pour l'étude de la répartition de l'azote urinaire. Chez les invertébrés, OTTO v. FURTH

a obtenu par l'emploi de ce réactif des renseignements intéressants sur la composition de l'urine d'*Octopus*.

Ajouté en léger excès dans un liquide préalablement acidifié à 5 0/0 de SO^4H^2 , le réactif phosphotungstique, qui est ainsi constitué (MOREL) :

Acide phosphotungstique très pur. . . 100 gr.

Acide sulfurique à 66°. 70 gr.

Eeau distillée. Q. S. p. 1 litre.

précipite bien l'ammoniaque, les bases puriques et l'acide urique, les acides diamminés, les peptones et les albumoses, etc.

Par contre, l'urée, les acides monoaminés ne précipitent pas et se retrouvent dans le filtrat. Il était donc intéressant, surtout pour les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires, d'effectuer cette séparation. En outre, les dosages de l'azote du précipité et du filtrat PhW peuvent servir à contrôler le dosage de l'azote non protéique total. Il est évident, en effet, que l'N du filtrat plus l'N du précipité PhW doit être égal ou très voisin de l'N non protéique total.

Les liquides à étudier ont été additionnés de SO^4H^2 en quantité convenable pour que leur teneur soit de 5 0/0, et d'un excès de réactif PhW. Comme pour le dosage précédent, les prises ont varié suivant la richesse en azote des liquides. D'une façon générale, la prise a été double de celle de l'azote non protéique total (50 ccm. pour les liquides cavitaires et d'excrétion; 5 ccm. pour les extraits d'organes).

Après agitation, les liquides sont laissés au repos 24 heures. On isole par centrifugation le précipité PhW. Après lavage avec SO^4H^2 à 5 0/0, on l'introduit sans en perdre dans un ballon KJELDHAL avec le mélange sulfurique. Les opérations sont les mêmes que précédemment. L'azote du précipité PhW est titré au formol après distillation.

Le dosage de l'azote contenu dans le filtrat PhW se fait de la même façon, après avoir introduit dans un autre ballon les liquides séparés par centrifugation,

Il faut toujours s'assurer que la précipitation des phosphotungstates a été totale, en ajoutant un peu du réactif PhW dans le liquide clair obtenu après centrifugation.

E. — DOSAGE DE L'AZOTE AMINÉ LIBRE ET DE L'AZOTE VOLATIL
TITRABLE AU FORMOL.

Sans transformation préalable par le procédé KJELDHAL, l'azote des acides aminés (SØRENSEN), l'azote de l'ammoniaque et de quelques amines (RONCHÈSE) sont directement titrables au formol.

Alors que l'azote aminé est fixe, l'azote de l'ammoniaque et des amines est volatil, de telle sorte qu'il faut tout d'abord séparer exactement l'azote fixe de l'azote volatil par distillation à basse température.

Dans ce but, nous avons utilisé avec de bons résultats le principe de la méthode dite d'aération de FOLIN (1903), dont s'était déjà servi BOUSSINGAULT (1850) dans ses recherches sur la quantité d'ammoniaque contenue dans l'urine.

L'appareil dont je me suis servi, dont le dessin se trouve dans la thèse du Dr BREL (Bordeaux, 1921), qui a été faite sous ma direction, se compose : 1° de deux flacons laveurs de DURAND, l'un contenant de l'acide sulfurique pour débarrasser l'air qui pénètre dans l'appareil des traces d'ammoniaque, l'autre contenant une solution concentrée de soude pour fixer l'acide carbonique; 2° d'un tube de pyrex de fort calibre, dans lequel on introduit le liquide à étudier, et qui est plongé dans un bain-marie d'eau, qui sera chauffé à 40°; 3° de deux petits flacons laveurs, contenant quelques ccm. d'HCl N/20 destinés à recueillir l'azote volatil; 4° d'une trompe à eau.

En outre, pour empêcher la formation de mousse au cours de la distillation, on interpose entre flacons laveurs de DURAND et le tube pyrex un tube en T, relié à un entonnoir à robinet, qui permet l'introduction d'alcool dans le pyrex au cours de la distillation. Enfin, pour éviter le passage d'un peu de mousse,

un tube à boule est placé entre le pyrex et les flacons contenant HCL N/20.

L'expérience nous a montré qu'avec cet appareil la distillation de très petites quantités d'azote volatil (0,1 à 0,5 mgr. environ) est totale, après une heure d'aération, à 40°. Lorsque la quantité d'azote volatil est plus forte (ce dont on est averti par un premier dosage fait immédiatement après une heure), il est nécessaire de continuer l'aération dans les mêmes conditions pendant une deuxième heure. Il suffit alors de changer rapidement les flacons contenant HCl N/20.

Pour déterminer l'azote volatil titrable au formol des extraits désalbuminés des organes, une concentration préalable du liquide n'est pas nécessaire. On introduit directement dans le tube pyrex de fort calibre un volume correspondant à 1 gr. d'organe, soit 25 ccm. le plus souvent. Le liquide est légèrement alcalinisé, en présence de phtaléine, après addition d'une pincée de chlorure de baryum pulvérisé, avec de la baryte en poudre. On ajoute 5 à 10 ccm. d'alcool à 90°, pour éviter la formation de mousse et faciliter la distillation.

L'appareil étant monté, on chauffe le bain-marie à 40° et l'on met en action la trompe à eau, etc.

Les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires, ne contenant que très peu d'azote, le dosage de l'azote directement titrable au formol ne peut être effectué avec précision qu'en opérant le dosage sur une bien plus grande quantité de liquide (50 cc. au moins, 100 cc. en moyenne, et quelquefois 200 ccm.). Dans ces conditions, il est nécessaire de leur faire subir une concentration préalable pour les réduire à un volume égal ou inférieur à 20 ccm. On sature tout d'abord l'excès de leur acidité par de la soude à 10 0/0 en présence de phtaléine. Les liquides encore légèrement acides, pour éviter le départ de l'ammoniaque, sont ensuite concentrés au bain-marie à 55°, 60°

Après concentration, le liquide est introduit avec l'eau de lavage dans le tube, et la série des opérations est la même que pour les extraits d'organes,

Le titrage au formol de l'azote volatil contenu dans les deux barboteurs contenant HCl N/20 ne présente aucune particularité. L'alcool distillé facilite le dosage, qui ne diffère en rien de ceux que nous avons déjà étudiés.

Le titrage au formol de l'azote fixe contenu dans le liquide du tube pyrex est un peu différent. Par filtration on se débarrasse du précipité de phosphates et de carbonates, qui est lavé avec une petite quantité d'eau distillée tiède. Le filtrat est décoloré par addition de quelques gouttes d'HCl N puis N/20, puis ramené à la légère teinte rosée avec quelques gouttes de baryte titrée en présence d'un excès de phtaleïne.

Dans le liquide exactement neutralisé on verse un excès de formol (20 cm. environ) puis de la baryte titrée jusqu'à *coloration rouge* suivant les indications de SÖRENSEN, et l'on note le volume de baryte employé. De ce volume, on retranche le volume de baryte titrée nécessaire pour faire apparaître la même coloration rouge dans un témoin où, toutes choses égales, l'on a remplacé le liquide étudié par un volume égal d'eau distillée neutralisée. En moyenne, dans nos essais, ce volume a été de 0,2 ccm.

Il faut enfin s'assurer que la coloration rouge obtenue persiste après une nouvelle addition de formol neutre.

La question qui se pose maintenant est celle de connaître exactement les composés azotés qui sont ainsi titrés au formol, soit comme azote fixe, soit comme azote volatil. Les recherches de SÖRENSEN, dont j'ai déjà donné un résumé dans ma thèse (1910), ont démontré que l'azote de la plupart des acides aminés se titre bien au formol. L'azote fixe renseigne donc surtout sur la teneur des liquides en azote aminé libre, c'est-à-dire appartenant à des acides aminés.

Cependant, il existe, en très petite quantité il est vrai, dans les albumoses et les peptones des groupes aminés directement titrables au formol, de telle sorte que, pour ceux de nos liquides qui contenaient de notables quantités de ces corps, le chiffre obtenu n'est pas parfaitement exact.

En ce qui concerne l'azote volatil titrable au formol, on ad-

met que, pour l'urine humaine, il appartient tout entier à l'azote ammoniacal. Pour les liquides que nous avons soumis à l'analyse, il n'en est probablement pas de même. On sait, en effet, depuis les travaux de CAMBIER et BROCHET (1895) que les sels d'amines primaires réagissent exactement avec le formol comme les sels ammoniacaux, depuis ceux de RONCHÈSE que les sels de diméthylamine exercent une action égale à celle des quatre cinquièmes environ de l'ammoniaque correspondante, et que ceux de triméthylamine n'ont qu'une influence à peu près nulle, due probablement à des traces d'ammoniaque contenues comme impureté.

Nous avons fait quelques essais de séparation de ces corps par le procédé de FRANÇOIS (1907), basé sur l'action de l'oxyde jaune de mercure, qui se combine avec l'ammoniaque, alors que les amines primaires et secondaires ne réagissent pas. Cependant, ces recherches n'étant pas encore assez avancées, nous donnerons seulement dans ce travail le chiffre global de l'N volatil titrable au formol.

F. — DOSAGE DE L'AZOTE AMINÉ COMBINÉ.

Ce dosage n'a pas été fait systématiquement comme le précédent. Cependant, dans quelques cas, il nous a paru intéressant.

On sait que, par hydrolyse, les albumoses et les peptones sont transformés en acides aminés. En déterminant l'azote fixe titrable au formol dans les liquides préalablement soumis à l'hydrolyse on obtient l'azote fixe total, qui comprend l'azote des acides aminés libres plus l'azote des albumoses et des peptones. Connaissant déjà l'azote aminé libre, déterminé avant hydrolyse sur une autre prise, il est facile d'en tirer l'azote aminé combiné, ou azote peptidique, ou azote des albumoses et des peptones.

Divers auteurs se sont préoccupés de déterminer les conditions optima de l'hydrolyse (HENRIQUES et GJALDBÆCK, 1910). Nous avons suivi leurs indications,

Après concentration préalable, ou directement suivant les cas, les liquides sont additionnés d'HCl pur en quantité convenable pour que leur teneur en acide corresponde à celle de HCl 3N., puis portés à l'autoclave à 120° pendant une heure. Par évaporation au bain-marie à 60°, on chasse l'excès d'HCl. Le résidu est repris par 20 ccm. d'eau distillée. Dans le liquide ainsi obtenu on dose l'azote fixe titrable au formol comme précédemment.

Ainsi que nous l'avons déjà signalé (1923), il est possible aussi à l'aide du réactif de TANRET de déterminer approximativement la teneur en albumoses et peptones des liquides en comparant par rapport à une solution témoin de peptones Witte l'intensité du trouble qui se manifeste après refroidissement.

G. — DOSAGE DE L'AZOTE URÉIQUE.

L'azote uréique a été titré au formol après transformation en ammoniacque par le procédé Kjeldahl, de sa combinaison avec le xanthidrol. Nous avons tenu compte des recommandations de l'auteur de la méthode R. FOSSE (1916) ainsi que de celles de W. MESTREZAT et M. JANET (1920).

Après quelques tâtonnements, nous avons adopté la technique suivante :

Vu la faible teneur en urée des liquides analysés, une concentration préalable au bain-marie à 60°, en milieu neutre, a été nécessaire. Pour les organes nous avons pris une quantité de liquide correspondant au moins à 2 gr. (50 ccm.), pour les liquides cavitaires ou d'excrétion 100 et souvent 200 ccm. Le résidu obtenu après concentration est traité à deux ou trois reprises par de l'alcool à 90°. Les liquides alcooliques sont débarrassés par centrifugation des matières en suspension, et évaporés de nouveau au bain-marie à 60°. Le nouveau résidu est repris par 10 ccm. d'acide acétique dilué (2 parties d'acide acétique, 1 partie d'eau distillée). Le liquide acétique est versé dans un tube à centrifugeur. S'il n'est pas parfaitement clair et limpide, on le débarrasse par centrifugation des ma-

tières en suspension. Dans le liquide clair, on ajoute 2 fois en mélangeant, à dix minutes d'intervalle, 1 ccm. d'une solution limpide à 10 0/0 de xanthidrol pur dans l'alcool méthylique absolu. Le précipité de xanthylurée se forme peu à peu.

Après 4 à 5 heures de condensation, le précipité d'urée est isolé par centrifugation; on se débarrasse du liquide par siphonage. Le précipité est ensuite lavé, c'est-à-dire mis en suspension dans de l'alcool méthylique (5 ccm.) et de nouveau isolé par centrifugation. La transformation en ammoniacale de l'azote de la dixanthylurée, par la méthode de Kjeldahl, a été faite d'après les indications de R. FOSSE, en utilisant comme adjuvant le sulfate mercurique.

On dissout le précipité contenu dans le tube à centrifugation dans un peu de $\text{SO}_4 \text{H}_2$ pur (1 ou 2 ccm. suivant l'importance du précipité), on ajoute 4 à 5 gouttes de la solution de sulfate mercurique de Denigès et un peu d'eau distillée. On verse le tout et les eaux de lavage dans un ballon Kjeldahl de 200 ccm., et l'on chauffe sous la hotte à 100° jusqu'à décoloration. Le liquide sulfurique refroidi est additionné de 20 ccm. d'eau distillée et de 1 ccm. d'une solution à 20 p. 100 d'hypo-sulfite de soude afin de précipiter le mercure. Après refroidissement, le liquide est alcalinisé par addition de lessive de soude, etc. Après distillation, l'azote uréique est finalement titré au formol, comme précédemment.

H. — DOSAGE DE L'AZOTE PURIQUE.

L'azote purique total comprend, d'une part, l'azote de l'acide urique, et d'autre part, l'azote des bases puriques, dont les principales sont les aminopurines (adénine et guanine) et les oxypurines (hypoxanthine et xanthine).

Deux méthodes permettent d'isoler ces corps sous forme de combinaison spécifique. Par le procédé SALKOWSKI, ils sont isolés à l'état de purates argentico-magnésiens; par celui de KRUGER, à l'état de composés cuivreux.

Nous nous sommes servi le plus souvent de cette dernière méthode; toutefois, pour les liquides d'excrétion et les liqui-

des cavitaires qui contiennent très peu d'azote, il nous a paru utile d'utiliser comparativement les deux méthodes, afin d'éviter autant que possible les causes d'erreur. Le cas échéant, nous indiquerons la méthode qui a été employée.

Pour doser par le procédé SALKOWSKI l'azote purique contenu dans les liquides d'excrétion ou cavitaires, on prélève 200 ccm. du liquide, que l'on additionne d'un excès d'ammoniaque. Filtrer pour séparer les phosphates alcalino-terreux. Dans le filtrat clair on ajoute 20 ccm. de solution argentico-magnésienne N/10 de DENIGÈS.

Il arrive qu'aucun trouble net ne se manifeste immédiatement, mais en laissant reposer le liquide un temps suffisant (24 heures et plus) il se dépose souvent au fond du vase un précipité, que l'on isole par décantation du liquide surnageant, suivie de centrifugation du liquide contenant en suspension le précipité. Celui-ci est ensuite lavé à l'eau ammoniacale, et isolé de nouveau par centrifugation et décantation. Il est ensuite mis en suspension dans l'eau, et versé, sans en perdre, dans une capsule de porcelaine. Pour chasser complètement l'ammoniaque on ajoute une pincée de magnésie calcinée, et l'on chauffe au bain-marie à 100° jusqu'à forte concentration. Lorsque tout l'ammoniaque est chassé, on verse dans la capsule 3 à 4 ccm. du mélange à parties égales d'acide sulfurique pur et de sulfate de cuivre à 1 p. 100 ; on introduit le tout, y compris les eaux de lavage, dans un ballon Kjeldahl. Après transformation en ammoniaque et distillation, l'azote purique total est finalement titré au formol.

Nous avons fait quelques essais pour isoler par le procédé SALKOWSKI les bases puriques à partir du précipité PhW, mais soit parce que les bases puriques ne précipitent pas entièrement par le réactif PhW (BURIAN et HALL), soit parce que le traitement barytique en retient une partie, les résultats obtenus ont été plus faibles et nous ont paru moins satisfaisants.

La précipitation de composés puriques par le procédé KRUGER a été faite elle aussi directement, sans concentration préalable.

Pour les liquides ne contenant que très peu d'azote total la prise est encore de 200 ccm., que l'on introduit dans une fiole conique. Le liquide est alcalinisé légèrement en présence de phtaléine avec de la soude à 10 p. 100, puis décoloré par addition de quelques gouttes de bisulfite de soude. Filtrer, s'il se forme un trouble ou un précipité. Dans le liquide clair on ajoute en agitant 3 ccm. de solution d'acétate de soude à 10 p. 100, 2 ccm. de la solution commerciale de bisulfite de soude et quelques gouttes de sulfate de cuivre à 10 p. 100. Le liquide contenu dans une fiole conique (pyrex) de 250 ccm. est porté pendant 4 minutes à 100°, pour faciliter la formation des combinaisons cuivreuses.

Le précipité, souvent mélangé à de l'oxydure de cuivre, est isolé par centrifugation, lavé à l'eau bouillante dans le tube à centrifugeur, et isolé de nouveau par centrifugation. On le fait passer ensuite sans en perdre dans un ballon Kjeldahl. Finalement on dose au formol l'azote qu'il contient comme l'azote du précipité argéntico-magnésien.

Pour les extraits désalbuminés d'organes, la technique est la même, avec cette différence cependant que, vu la quantité beaucoup plus forte d'azote purique qu'ils contiennent, il suffit d'opérer sur 50 ccm. de liquide, correspondant à 2 gr. d'organe.

L'azote purique ainsi dosé directement, c'est-à-dire sans hydrolyse préalable, est de l'azote purique *libre*. Il eut été certainement intéressant de doser comparativement l'azote purique après hydrolyse contenu dans les extraits désalbuminés, et de déterminer ainsi l'azote purique combiné. Mais ces recherches n'ont pu qu'être amorcées ; elles dépassent d'ailleurs le cadre de ce travail.

I. — DOSAGE DE L'AZOTE DE L'ACIDE URIQUE.

La méthode colorimétrique de J.-L. MORRIS et A.-G. MAC LEOD (1922) permet de doser de très petites quantités d'acide urique (0.03 à 0.50 mgr.). Des essais préliminaires nous ayant montré qu'avec quelques modifications de la méthode, on peut

aisément retrouver dans l'eau de mer des traces d'acide urique, et d'autre part, que ce procédé donne de bons résultats avec les extraits d'organes désalbuminés par l'acide trichloracétique, nous l'avons utilisée.

Les réactifs, préparés suivant les indications des auteurs, sont les suivants : 1° le réactif arsénotungstique; 2° une solution de Zn Cl_2 à 2.5 0/0; 3° une solution de $\text{CO}_3 \text{ Na}^2$ à 10 0/0; 4° une solution d' HCl à 10 0/0; 5° une solution de Na Cy à 10 0/0, enfin une solution étalon d'acide urique contenant 100 mgr. dans 500 ccm. préparée suivant BÉNÉDICT et HITCHCOCK.

Le dosage de l'acide urique dans les extraits d'organe ne présente aucune difficulté. Vu la grande sensibilité de la méthode, il est inutile de concentrer. Un premier essai approché renseigne sur l'absence ou la présence en plus ou moins grande quantité de l'acide urique dans l'organe étudié.

Dans ce but, on introduit dans un tube à centrifugeur 10 ccm. du filtrat, 1 cc. de la solution de Zn Cl_2 , puis, goutte à goutte, en mélangeant avec un agitateur la solution de $\text{CO}_3 \text{ Na}^2$, jusqu'à formation du précipité, qui entraîne l'acide urique. Agiter et centrifuger. Ajouter encore quelques gouttes de $\text{CO}_3 \text{ Na}^2$ pour s'assurer que la précipitation est complète. Le précipité est isolé par décantation du liquide, dissout dans quelques gouttes de la solution chlorydrique, dilué avec un peu d'eau distillée (5 ccm.), et alcalinisé avec la solution de cyanure (2,5 ccm.), enfin transvasé avec l'eau de lavage dans une éprouvette jaugée de 20 ccm. On complète et l'on ajoute 0,4 ccm. du réactif arsénotungstique. La coloration bleue apparaît rapidement. Si elle est trop intense pour permettre le dosage, le liquide étudié sera auparavant dilué au demi, au cinquième, etc., suivant les cas, les opérations restant les mêmes.

Dans quelques cas il arrive que le liquide se trouble et qu'aucune coloration bleue ne se manifeste. Il ne faut conclure à l'absence d'acide urique, que si, après formation du précipité et nouvelle addition de réactif, le liquide reste incolore.

Le dosage de l'acide urique dans les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires présente quelques difficultés. D'une part,

il faut opérer la précipitation sur une quantité plus grande de liquide (20 ccm.); d'autre part, les sels alcalino-terreux précipitent, ce qui gêne le dosage. Il est possible de se débarrasser de ces sels en ajoutant avant l'addition du chlorure de zinc la solution de carbonate de soude au liquide, et en centrifugant, mais le procédé n'est pas recommandable, car les traces d'acide urique que contiennent certains liquides peuvent être retenues par le précipité et échapper ainsi à l'analyse.

Le précipité sera donc obtenu dans les mêmes conditions que précédemment. Dissous ensuite dans la solution chlorhydrique, il est additionné d'une quantité double de cyanure de sodium (5 ccm.). Il se forme alors un précipité dont on se débarrasse par filtration. Le filtrat clair est recueilli dans une éprouvette l'on ajoute 0,4 ccm. du réactif arsénotungstique, et plus, si cela est nécessaire.

Il arrive souvent que le liquide se trouble. Au moment du dosage il suffira de centrifuger pour obtenir un liquide clair, comparable au témoin. Le dosage colorimétrique lui-même ne présente rien de particulier. Il a été fait dans le délai d'une demi-heure. J'ai utilisé le colorimètre Moreau et pris soin de faire une série de témoins, afin de pouvoir comparer des liquides dont la coloration soit très voisine.

J. — DOSAGE DU GLYCOGÈNE.

Cherchant à savoir s'il n'existerait pas chez les Invertébrés un rapport entre la formation de glycogène et la formation d'urée, j'ai dosé assez souvent le glycogène dans les extraits désalbuminés des organes, (aussitôt après leur préparation, car le glycogène s'hydrolyse peu à peu, en milieu acide, à l'aide de la technique suivante :

Dans une fiole conique de 100 ccm. on verse un volume du filtrat, correspondant à 1 gr. d'organe (2 ccm. par exemple), 5 ccm. de lessive de soude et 40 ccm. d'alcool à 90°. Décanter après 24 heures et isoler le précipité par centrifugation. Le précipité est lavé à l'alcool et finalement dissous dans 10 ccm.

d'HCl à 2.2 p. 100. La solution placée dans un ballon relié à un réfrigérant à reflux est chauffée 3 heures à 100°. Dans le liquide refroidi, neutralisé par la soude, et filtré, on dose le glucose par la méthode de BERTRAND modifiée par L. AMBARD (1920) pour le dosage de petites quantités de sucre.

En dosant le glycogène contenu dans le filtrat trichloracétique, il est certain qu'une petite quantité du glycogène contenu dans les organes échappe à l'analyse. Le chiffre obtenu n'a donc pas de valeur absolue. Il a toutefois une valeur relative suffisante pour nos recherches.

CHAPITRE III

ÉTUDE ANALYTIQUE

ÉCHINODERMES

Les recherches qui ont été faites sur l'excrétion azotée des Echinodermes sont assez nombreuses, mais l'accord est loin d'être fait sur la nature chimique des produits excrétés.

MARCHAL, qui a résumé en 1889 nos connaissances sur ce sujet, s'exprime ainsi : « Chez les Echinodermes, nous ne savons rien sur la chimie physiologique des organes excréteurs. CARUS (1853) aurait trouvé un corps ayant les réactions de la guanine dans les utricules anaux des Astéries et dans l'organe de Cuvier des Holothuries. KRUKENBERG a recherché l'acide urique dans le foie (dépendances radiaires de l'intestin), d'*Ophioglypha texturata*, et dans le foie, l'intestin et les culs-de-sac interradiaires d'*Astropecten aurantiacus*, mais il n'a pas pu en découvrir. MÜLLER et TROSCHEL avaient déjà obtenu des résultats négatifs analogues chez les Astéries. »

Les recherches de COHNHEIM (1901) sur la digestion et les échanges des Echinodermes ne l'ont conduit à aucune conclusion satisfaisante en ce qui concerne la nature chimique des produits d'excrétion. D'après cet auteur, les Holothuries, les Astéries et les Ophiures n'excrètent pas d'ammoniaque. Il admet, en outre, que c'est par l'intestin que les Holothuries éliminent sous forme peu soluble leurs déchets azotés.

R. BURIAN a fait, en 1910, un bon exposé des recherches qui ont été faites pour déterminer la nature des déchets azotés solubles. Voici ses conclusions. Il signale tout d'abord l'imprécision de nos connaissances au point de vue chimique. On a trouvé, à la vérité, dit-il, chez toutes les formes étudiées, dans le liquide cavitare, de petites quantités d'une substance analogue à l'urée, qui, vraisemblablement, doit être éliminée au dehors. Comment et où ? On ne le sait pas. Il est seulement certain que ces êtres n'ont pas de vrais émonctoires ; toutes les données contraires ont été reconnues inexactes. Bien que l'excrétion des matières dissoutes doive s'effectuer simplement, elle n'est pas le résultat d'une diffusion banale, mais d'une véritable activité excrétoire. C'est ainsi qu'un des organes possibles d'excrétion, l'intestin, est tapissé çà et là d'un épithélium qui possède le caractère de cellules qui fixent l'indigo, c'est-à-dire qui possède la propriété de rassembler sous forme de vacuoles ou de granulations l'indigo-sulfate de soude, la fuschsine acide, lorsque ces colorants sont injectés dans la cavité générale, et de les rejeter dans la lumière de l'intestin. En dehors de l'intestin, on considère encore comme organes à fonction excrétrice pour les matériaux solubles les surfaces respiratoires du corps des Echinodermes. A l'appui de cette opinion, il existe une observation, qui demande d'ailleurs confirmation, à savoir que, d'après BORDAS, le liquide qui exsude des poumons des Holothuries contient de l'acide urique.

Les recherches plus récentes de R. MYERS (1920) et de van der HEYDE (1923) doivent être enfin signalées. MYERS a trouvé dans le liquide cavitare des Echinodermes, des Astéries

(*Pisaster ochraceus*) et des Oursins (*Strongylocentrotus francescanus*), les mêmes déchets azotés (urée, ammoniacque, créatinine et créatine) que dans le sang des vertébrés, avec cette différence toutefois que la quantité trouvée pour 100 cmc. est incomparablement plus petite. Il signale en outre la présence de traces indosables d'acide urique. Au contraire, van der HEYDE estime avec COHNHEIM, que le liquide cavitairé des Echinodermes n'est pas autre chose que de l'eau de mer contenant en suspension des amibocytes, qu'on n'y trouve ni ammoniacque, ni urée, ni créatinine, sauf peut-être au moment de la digestion. A l'aide de la méthode de FOJIN et WU, il a pu caractériser la présence d'acide urique chez *Asterias Forbesi*, *Arbacia punctulata*, *Thyone briarcus*, dans le liquide cavitairé et dans certaines parties du tube digestif. Il conclut que l'intestin, particulièrement dans ses parties terminales, semble être l'organe d'excrétion des Echinodermes et que « la substance excrétée la plus importante est l'acide urique ».

I. — *Asterias Rubers*

A. — LES DÉCHETS AZOTÉS ÉVACUÉS DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR

Données antérieures. — COHNHEIM a laissé pendant quarante heures cinq grosses étoiles de mer (*Astropecten auriantacus*), récemment capturées, dans 8,100 cmc. d'eau de mer. L'aération était assurée par un courant d'oxygène qui, après barbotage, passait à travers une solution d'acide sulfurique. Il ne s'est produit dans ces conditions aucune libération d'ammoniacque. Des débris de muscle et des détritüs ont été trouvés au fond du vase; 500 cmc. d'eau de mer contenaient 3,9 mgr d'azote total, alors que l'eau de mer témoin contenait seulement 2 mgr.; mais, étant donné la présence de mucus, l'auteur considère qu'il ne peut rien conclure de la plus-value (1,9 mgr.). Il se borne à signaler que les Astéries n'excrètent pas d'ammoniacque.

R. FOSSE a tapissé le fond d'une cuve en verre avec des Astéries qu'il a recouvertes d'une légère couche d'eau de mer. Après quarante heures, les animaux ont été retirés bien vivants. Le liquide, légèrement rosé, additionné d'acide acétique dans la

proportion de un pour cent, a été filtré puis mélangé à une solution acétique de xanthydrol. Dans ces conditions, il s'est formé un précipité que FOSSE a identifié comme étant la combinaison xanthylée de l'urée. Deux expériences semblables ont donné les mêmes résultats. Enfin, aucune trace d'urée n'a été trouvée dans l'eau de mer témoin.

Observations personnelles. — La technique que j'ai suivie est très voisine de celle de R. FOSSE, avec cette différence toutefois que la durée d'expérience n'a été que de vingt-quatre heures, et que l'eau de mer a été renouvelée. Je me suis servi pour ces recherches de l'*Asterias rubens* L., que l'on trouve en abondance dans le bassin d'Arcachon. Cette espèce, très robuste, se nourrit de mollusques, de moules et d'huîtres. Essentiellement carnivore, pouvant être facilement capturée aux diverses époques de l'année, l'Astérie est un matériel de choix pour l'étude des échanges azotés.

Le liquide d'excrétion n° 1 a été recueilli au début d'octobre 1923, en plaçant dans un grand cristalliseur contenant 500 cmc. d'eau de mer, cinq grosses astéries, dont le poids total était de 550 grammes. Le liquide d'excrétion n° 2 a été recueilli dans les mêmes conditions le 24 avril 1924, et le liquide n° 3 le 18 septembre 1924. Les Astéries qui ont servi à ces recherches venaient d'être capturées. Elles étaient encore bien vivantes, lorsqu'elles ont été retirées du cristalliseur contenant l'eau de mer, qui présentait une légère teinte rosée. Elles furent ensuite sacrifiées pour la recherche des déchets azotés dans le liquide cavitair.

La technique chimique qui a été utilisée a été déjà exposée longuement au chapitre II.

J'ai réuni dans le tableau suivant les résultats qui ont été obtenus.

(Voir tableau I, page 55)

Le fait le plus important qui se dégage tout d'abord de l'examen de ces recherches est le suivant : dans la proportion de 70 à 80 p. cent environ, l'N excrété appartient au groupe azote formol et azote urée, c'est-à-dire au même groupe que celui qui représente chez les Mammifères dans une très large mesure (85 p. 100 environ) l'azote excrété. A ce point de vue, il n'existe pas de différence fondamentale entre l'excrétion des Astéries et

TABLEAU I

	Mgr d'N dans 100 ccm d'eau de mer.			Répartition de N non protéique (rapport p. 100)		
	Liquide 1	Liquide 2	Liquide 3	Liquide 1	Liquide 2	Liquide 3
N non protéique total	1,50	1,40	0,80	100,0	100,0	100,0
N (NH ₃)	0,72	0,51	0,19	48,0	46,3	23,7
N (NH ₂)	0,26	0,27	0,22	17,3	24,5	27,5
N urée	0,42	0,10	0,45	8,0	9,1	18,7
N formol + N urée	1,10	0,88	0,56	73,3	79,9	69,9
N Purique	—	0,04	0,08	—	3,6	10,0
N acide urique	—	Trace	Traces	—	—	—
N PhW filtrat	1,13	0,57	0,40	74,1	51,0	50,0
N PhW précipité	0,46	0,55	0,39	28,9	49,0	50,0
N dosé	1,40	0,92	0,64	73,3	83,5	79,9
N indéterminé	0,40	0,18	0,16	26,7	16,5	20,1

Nota. — Le groupe N (NH₃) comprend non seulement l'azote ammoniacal mais aussi celui des bases volatiles titrables au formol. Même observation pour tous les tableaux.

celle des êtres les plus élevés en organisation. On ne peut, dans ces conditions, contrairement à l'opinion soutenue par certains auteurs, admettre que l'azote est excrété principalement sous forme d'azote purique et surtout d'azote appartenant à l'acide urique. L'azote purique ne forme en effet qu'une faible partie de l'azote total (moins de 10 p. 100) et l'acide urique ne se trouve dans les liquides d'excrétion qu'à l'état de traces indosables.

L'étude des rapports des diverses formes de l'azote dosé avec l'azote total met en évidence d'autres faits qui semblent traduire l'imperfection de l'excrétion azotée. Ce sont : 1° l'excrétion en quantité importante d'azote aminé qui représente 15 à 30 pour

cent de l'N excrété et d'azote volatil titrable au formol (N H^3 et aminés), dans la proportion de 25 à 50 p. 100; 2° l'excrétion faible d'urée (environ 10 p. 100) qui paraît affecter avec l'excrétion d' NH^3 un rapport inversement proportionnel. C'est ainsi que pour le liquide 3, le rapport de N urée à N total est élevé (18 p. 100) et le rapport de N (NH^3) à N total est bas (23 p. 100), alors que pour les liquides 1 et 2, à une excrétion uréique faible (inférieure à 10 p. 100) correspondait une excrétion ammoniacale relativement forte (41 à 50 p. 100).

Ces recherches confirment celles de R. FOSSE, qui a signalé la présence d'urée dans le liquide où ont vécu des Astéries; elles précisent d'autre part l'importance relative de l'excrétion uréique. Par contre, elles démontrent que la conclusion à laquelle a abouti COHNHEIM n'est pas fondée. Non seulement les Astéries excrètent de l'ammoniaque, mais ce corps, ou des corps voisins (amines) représente le principal déchet. Le résultat négatif, obtenu par COHNHEIM, s'explique peut-être si l'on considère qu'il a fait vivre les animaux dans un volume d'eau de mer beaucoup trop considérable pour qu'il soit possible d'y retrouver aisément les déchets; et aussi parce qu'il n'a pas pris soin de rechercher l'ammoniaque dans l'eau de mer elle-même, mais seulement dans le flacon à acide sulfurique où barbotait l'oxygène après son passage dans l'eau de mer.

B. — LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LE LIQUIDE CAVITAIRE

Données antérieures. — On admet en général que le liquide cavitare remplit les mêmes fonctions que le sang, c'est-à-dire qu'il est l'intermédiaire grâce auquel s'effectuent les échanges nutritifs. Il reçoit du tube digestif, dont la constance dans la série animale est si remarquable, les matériaux nutritifs; il reçoit des tissus les produits de déchet qu'il est chargé de porter au dehors. Il doit renfermer nécessairement les matériaux azotés nutritifs témoins de l'assimilation, et les matériaux azotés de déchet, témoins de la désassimilation.

Les recherches assez nombreuses, qui ont été faites en vue de caractériser les corps azotés que renferme le liquide cavitare, ont abouti à des résultats contradictoires. D'après O. COHNHEIM, et aussi d'après van der HEYDE, le liquide cavitare

des Astéries comme celui des autres Echinodermes, est de l'eau de mer pure, lorsqu'il a été débarrassé par centrifugation des éléments en suspension. D'après van der HEYDE, par exemple, le liquide cavitairé d'*Astérias Forbesi* ne contient ni ammoniacque, ni urée, ni créatine; le seul corps qu'il soit possible d'y déceler est de l'acide urique.

Mes recherches (1912), antérieures à celles de van der HEYDE (1923) m'avaient conduit à une autre conclusion.

Le liquide cavitairé, après centrifugation, se différencie nettement de l'eau de mer par la présence en petite quantité dans ce liquide de corps azotés. C'est ainsi que, pour 100 cmc., j'avais trouvé de 1 à 3 mgr. d'N protéique et de 2 à 5 mgr. d'N non protéique, qui est lui-même formé en grande partie d'N aminé (1 à 3 mgr), d'N ammoniacal (0,2 à 0,6 mgr.) et d'N titrable à l'hypobromite. D'après R. G. MYERS, qui, comme van der HEYDE, n'a pas pris connaissance de mes recherches, 100 cmc. de liquide cavitairé contiennent 4,4 mgr. d'N non protéique total et 1,0 mgr. d'azote appartenant à l'urée et l'ammoniacque; il a signalé en outre des traces de créatinine et de créatine, ainsi que l'instabilité du rapport de l'N urée à l'N non protéique, qui peut varier de 22 à 62 p. cent.

Recherches personnelles. — Nous avons étudié comparative-ment la répartition de l'N non protéique : 1° dans le plasma, c'est-à-dire dans le liquide débarrassé par centrifugation ou filtration des éléments figurés; 2° dans le liquide cavitairé total; 3° dans l'extrait désalbuminé des éléments figurés isolés par centrifugation ou filtration.

Cette dernière recherche n'était pas superflue.

Dans ses intéressantes études physiologiques sur les Astéries, CUÉNOT (1901) a, en effet, montré le rôle important que jouent les amibocytes comme agents d'excrétion. Les Astéries, dit-il, fournissent le plus bel exemple de phagocytose éliminatrice. Ils s'emparent des particules solides (encre de Chine), des colorants (carmin d'indigo), injectés dans la cavité générale. Les granulations d'excrétion sont ensuite évacuées dans le milieu extérieur. Dans quelle mesure les amibocytes sont-ils capables de capter des déchets azotés solubles et surtout les déchets peu

solubles (corps puriques, acide urique) ? Telle est la question qui pouvait se poser et que nous avons essayé de résoudre, par voie biochimique.

TABLEAU II

	Mgr N				Répartition de N			
	Dans 100 ccm			Pour Xgr.	Rapport p. 100			
	Liquide N° 1 (Plasma)	Liquide N° 2 (total)	Liquide N° 3 (total)		Liquide N° 1	Liquide N° 2	Liquide N° 3	Éléments figurés
N non protéi- que total.....	1,95	6,90	14,16	24,00	—	—	—	—
N (NH ³).....	0,40	0,30	0,45	0,37	20,5	4,3	3,2	1,5
N (NH ²).....	0,80	4,30	7,80	17,25	41,0	62,3	55,1	72,0
N Urée.....	0,09	0,12	0,21	0,48	4,6	1,7	1,5	2,0
N Purique...	—	0,12	0,45	—	—	1,7	3,1	—
N A. urique..	—	0,02	0,03	0,00	—	0,3	0,2	—
N PhW filtrat..	1,61	5,60	10,87	21,60	86,0	81,2	72,0	90,0
N PhW précipité	0,26	1,30	4,10	2,40	14,0	18,8	28,0	10,0
N dosé.....	1,29	4,84	8,91	18,10	66,1	70,0	62,9	75,5
N indéterminé	0,66	2,06	5,25	5,90	33,9	30,0	37,1	24,5

De l'examen de ce tableau, il se dégage que l'opinion soutenue par O. COHNHEIM et van der HEYDE n'est pas acceptable. Le plasma du liquide cavitaire n'est pas de l'eau de mer pure; il contient, comme le sang des Vertébrés, les corps azotés de transit, destinés soit à l'assimilation (azote aminé), soit à l'excrétion. La seule différence qui existe est d'ordre quantitatif. La teneur en N non protéique du liquide cavitaire est, en effet, bien inférieure à celle du sang des vertébrés.

L'azote ammoniacal représente environ 10 à 30 0/0 de l'azote non protéique; l'azote uréique 4 à 6 0/0 seulement; l'azote purique, 3 à 4 0/0; enfin, le liquide cavitare ne contient que des traces à peine dosables d'acide urique.

Lorsque l'analyse porte sur le liquide cavitare total, non centrifugé ou filtré, les résultats obtenus après désalbumination sont différents. Le chiffre de l'N non protéique total est beaucoup plus fort. Les amibocytes cèdent au liquide une quantité importante d'azote aminé libre. Par contre, on ne constate pas grande différence en ce qui concerne les déchets azotés, dont le transport et l'évacuation ne semblent pas être assurés par les amibocytes. Le courant de liquide qui traverse l'organisme des Astéries suffit à entraîner les déchets azotés solubles, sans qu'il y ait lieu de faire intervenir une excrétion cellulaire par les éléments figurés. Au point de vue chimique, ceux-ci représentent plutôt une réserve d'albumine et d'acides aminés qu'un organe chargé de fixer et d'éliminer les déchets normaux des échanges azotés.

C. — ETUDE COMPARÉE DE LA RÉPARTITION DE L'AZOTE
NON PROTÉIQUE DANS LES LIQUIDES D'EXCRÉTION
ET LE LIQUIDE CAVITAIRE

Si l'excrétion s'effectuait par simple diffusion des cristaalloïdes à travers la membrane qui sépare le milieu intérieur du milieu extérieur, il est évident que la répartition de l'N non protéique dans les liquides d'excrétion et le liquide cavitare serait très voisine. Il n'en est pas ainsi. Il est intéressant, en effet, de constater l'inversion du rapport de N (NH) et de N (NH²) à N non protéique total dans les deux liquides, que montre bien l'examen comparé des tableaux I et II.

L'azote aminé est retenu dans l'organisme dans une plus large mesure que l'azote ammoniacal. Dans le même ordre d'idées, VAN DER HEYDE a signalé que du glycocolle, injecté dans la cavité générale, disparaît rapidement, fixé par les amibocytes et les tissus, en particulier par les cæcums.

L'azote uréique, très diffusible, passe aisément du milieu intérieur dans le milieu extérieur, beaucoup plus facilement, sem-

ble-t-il, d'après les expériences de V. HENRI et LALOU, que du milieu extérieur dans le milieu intérieur. Etudiant la régulation des liquides internes chez les Echinodermes, ces auteurs ont vu, en effet, que l'urée ajoutée à l'eau de mer dans laquelle sont placés des Oursins ou des Holothuries passe difficilement dans le liquide cavitaire alors que les sels (Na Cl, par exemple) passent aisément. Quoique l'expérience n'ait pas été faite avec les Astéries, il en est vraisemblablement de même.

Il semble donc en définitive que, malgré leur état bien peu différencié, l'appareil d'excrétion des Astéries se comporte comme une membrane semi-perméable.

D. — LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LES ORGANES
(CÆCUMS RADIAUX, ORGANES GÉNITAUX)

L'excrétion chez les Astéries, comme chez les autres Echinodermes, est diffuse. Il n'existe pas d'organe spécifiquement différencié comme émonctoire. Nous avons déjà signalé le rôle excréteur des amibocytes. CUÉNOT a signalé en outre la présence de cellules excrétrices ou néphrocytes dans les cœcums radiaux (néphrocytes à indigo), dans l'épithélium péritonéal qui fixe et élimine le carminate d'ammoniaque, dans le corps de TIEDEMANN et la glande ovoïde. Il insiste sur le rôle excréteur des cœcums radiaux. « Les cœcums radiaux, dit-il, producteurs de diastases digestives et absorbant les produits solubles de la digestion, jouent un rôle des plus importants dans l'excrétion... Ce triple cumul physiologique n'a rien qui nous étonne, car le foie des Gastéropodes pulmonés et celui des Crustacés décapodes présentent des phénomènes plus ou moins semblables. »

La nature exacte des déchets azotés contenus dans les cœcums n'est pas connue. J. MÜLLER et TROSCHELL (1842), ainsi que KRUKENBERG (1880), y ont recherché en vain de l'acide urique. GRIFFITHS (1888) a bien signalé la présence de ce corps dans le liquide clair provenant des poches stomacales de l'*Uraster*, mais le fait n'est pas considéré comme exact (CUÉNOT, BURIAN).

En 1910, j'ai signalé la forte teneur en azote aminé des cœcums, ainsi que la présence dans ces organes d'une petite quantité d'ammoniaque. Pour 100 gr. de tissu frais, j'avais

trouvé : N total = 3.032 mgr; N aminé titrable au formol = 434 mgr (14,8 %); N (N H 3) = 11,8 mgr (0,4 %). Dans les cœcums radiaux d'*Astropecten aurantiacus*, KÖSSEL et EDELBACHER (1915) ont pu isoler les acides aminés suivants : taurine, glycocolle, tyrosine, isoleucine, acide glutamique, ainsi que d'autres corps qu'ils ont appelés stellastérine et astrol. Il n'est pas douteux que les acides aminés que l'on trouve en abondance à l'état libre dans les cœcums proviennent des matériaux azotés de la digestion et qu'ils représentent la réserve azotée immédiatement utilisable pour les échanges. van der HEYDE a insisté récemment (1913) sur la puissance de résorption de cœcums. Il a injecté dans la cavité générale du glycoce et du glycocolle et constaté que ces corps disparaissent rapidement, résorbés en particulier par les cœcums.

Une intéressante observation de Ch. PEREZ, dont j'ai eu souvent l'occasion de vérifier l'exactitude, permet peut-être de préciser le rôle important des cœcums dans les échanges azotés de l'Astérie. Le volume de ces organes varie considérablement suivant les époques de l'année. En avril-mai, au moment de la ponte, ils sont très réduits, alors que les organes génitaux ont le maximum de leur développement. Vers octobre-novembre, c'est l'inverse; les cœcums sont très volumineux alors que les organes génitaux sont à peine visibles. Tout se passe, en définitive, comme si les matériaux alimentaires, mis en réserve dans les cœcums pendant la belle saison, étaient ensuite utilisés pendant l'hiver pour la formation des produits sexuels.

Cette conception paraît d'autant plus vraisemblable que les cœcums sont riches en ferments protéolytiques (KRUKENBERG, L. FRÉDERICQ). Au cours de l'autolyse, l'albumine est rapidement dégradée, avec mise en liberté d'acides aminés (GRIFFITHS, COHNHEIM). Il est probable que pendant la période active les acides aminés provenant de la digestion sont mis en réserve dans les cœcums sous forme d'albumine, et que celle-ci est ensuite décomposée lentement par autoprotéolyse pendant la mauvaise saison.

Quoi qu'il en soit, il était intéressant de rechercher les déchets azotés non seulement dans l'extrait désalbuminé des

organes frais, mais aussi dans celui des cœcums soumis à l'autolyse. En outre, cette étude méritait d'être étendue, toutes choses égales, aux organes génitaux, afin d'avoir un terme de comparaison.

Recherches personnelles. — Effectuées suivant l'idée directrice qui vient d'être indiquée, elles sont réunies dans le tableau III (page 63).

Les faits, qui se dégagent de l'examen de ce tableau, sont relatifs soit à la teneur en déchets azotés des organes frais, soit à la néoformation de déchets azotés au cours de l'autolyse.

Dans les cœcums frais, on trouve, en quantité notable, les déchets azotés dont nous avons déjà signalé la présence dans le liquide cavitaire : N (NH_3), 8 à 11 mgr pour 100 gr.; N (urée), 2 à 3 mgr.; N purique, 19 à 20 mgr.; et des traces dosables d'acide urique. Les mêmes corps se retrouvent dans les organes génitaux, qui, toutefois, paraissent contenir relativement moins d'ammoniaque et d'acide urique. La réaction au réactif arsénotungstique est, en effet, bien plus faible dans l'extrait des organes génitaux que dans celui des cœcums. Il est difficile de tirer une conclusion de ces résultats, qui peuvent s'expliquer par le fait que, rapidement, grâce à la circulation, les déchets formés sont évacués sans pouvoir s'accumuler dans l'organe qui les forme ou qui ne les fixe que momentanément en vue de l'excrétion.

L'étude comparée de l'autoprotéolyse est plus instructive. Alors qu'elle est très accusée pour les cœcums, elle est à peine indiquée pour les organes génitaux. L'ammoniaque, qui représente, comme on sait, le corps le plus important de l'excrétion, se forme en quantité notable dans les cœcums au cours de l'autolyse, alors que la plus-value est faible pour les organes génitaux. Il se forme une petite quantité d'urée pendant l'autolyse des cœcums, alors qu'il ne s'en forme pas pendant celle des organes génitaux. La dégradation des nucléines est plus intense dans les cœcums que dans les organes génitaux. En ce qui concerne l'acide urique, aucune plus-value n'a été constatée après autolyse dans les deux organes, mais il est possible qu'en faisant varier les conditions expérimentales, sa forma-

TABLEAU III

Mgr N (p. 100 gr.)	Cæcums radiaux N° 1			Cæcums radiaux N° 2			Organes génitaux		
	Organe frais	Après autolyse	Différence	Organe frais	Après autolyse	Différence	Organe frais	Après autolyse	Différence
N non protéique total.....	610,0	1296,0	686,0	580,0	937,0	357,0	468,0	516,0	48,0
N (NH ³ et bases volatiles).....	8,0	57,6	49,6	41,0	47,5	36,5	6,0	18,0	12,0
N (NH ₂)	384,0	804,0	420,0	380,0	520,0	140,0	306,0	318,0	12,0
N Urée	2,4	6,4	3,7	2,3	9,0	6,7	2,8	4,9	0,9
N Purique.....	24,0	76,6	55,6	49,	66,0	47,0	26,0	48,0	22,0
N Acide Urique	0,6	traces	—	traces	traces	—	traces	traces	—
N Ph W filtrat	—	—	—	510,0	840,0	300,0	—	—	—
N Ph W précipité	—	—	—	75,0	127,0	52,0	—	—	—
Glycogène (mgr).....	—	—	—	389,0	485,0	—	—	—	—

tion puisse être mise en évidence. D'autres recherches sont nécessaires sur ce point.

En résumé, l'étude qui vient d'être faite s'accorde assez bien avec les hypothèses qui ont été émises. D'une part, il apparaît que les déchets azotés se forment en majeure partie dans les cœcums; d'autre part, il semble bien que c'est au cours des mutations chimiques nécessaires pour la transformation en produits sexuels de la réserve d'albumine accumulée dans les cœcums qu'ils prennent naissance en partie tout au moins.

A vrai dire, les cœcums renferment une petite quantité de glycogène, déjà signalée par PICARD (1874). J'ai trouvé en moyenne pour 100 gr. de tissu frais 300 à 400 mgr. Ils renferment d'autre part une certaine quantité de graisses. G. HINARD et R. FILLON (1921), étudiant la composition chimique des Astéries, ont évalué à 6,80-8,27 gr. la quantité de matière grasse contenue dans 100 gr. d'extrait desséché d'animal entier.

Il est probable que les acides aminés contribuent à la formation de ces réserves, mais, comme celles-ci peuvent aussi provenir directement de l'alimentation, il n'est pas possible de savoir dans quelle mesure l'ammoniaque et les bases azotées volatiles excrétées sont libérées au cours de l'utilisation des acides aminés, pour la formation des réserves ternaires.

II. — *Paracentrotus lividus*

A. — RECHERCHES SUR LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS L'EAU DE MER ET DANS LE LIQUIDE CAVITAIRE

Données antérieures. — A ma connaissance, aucune recherche n'a été encore faite, ayant pour but de déterminer la nature chimique des excréta azotés présents dans l'eau de mer où avaient séjourné les Oursins. Par contre, plusieurs auteurs ont cherché à caractériser dans le liquide cavitare les principaux déchets azotés.

MOURSON et SCHLAGDENHAUFFEN (1882) ont signalé la présence d'une petite quantité d'urée (10 à 13 mgr pour 100 parties) et de ptomaïne dans l'eau des Oursins, sans indiquer la technique qu'ils ont utilisée. O. COHNHEIM (1901) a trouvé que le liquide

débarrassé des amibocytes ne contient ni albumine, ni mucine, ni hydrates de carbone. Après avoir été traité par l'ammoniaque et débarrassé par filtration du précipité, le liquide n'a donné aucun précipité avec la solution ammoniaco-argentique. Evaporé à sec, il ne contenait aucune substance organique en quantité appréciable. Toutefois, après l'addition du réactif phosphotungstique, il s'est produit un trouble qui est manifestement plus intense qu'avec l'eau de mer. Dans le même ordre d'idées, la coloration au réactif de Nessler est plus forte dans le liquide que dans l'eau de mer. Le dosage de l'N total, d'après KJELDAHL, a décelé enfin la présence d'une plus grande quantité d'N (5,7 mgr pour 100 cmc.) que dans l'eau de mer (0,4 mgr pour 100 cmc.).

COHNHEIM pense que, peut-être, une partie de l'N appartient à l'ammoniaque. Il conclut toutefois que le liquide cavitairé centrifugé est de l'eau de mer pure.

A l'aide de la méthode à l'hypobromite, L. SANZO (1907) a trouvé en moyenne chez *Sphærechinus granularis*, pour 100 grammes de sang, 3,29 mgr. d'urée, c'est-à-dire, 1,47 mgr. d'N uréique.

J'ai étudié, en 1912, la répartition de l'azote pour 100 cc. de liquide cavitairé centrifugé; et signalé la présence d'urée et d'ammoniaque. R.-G. MYERS a fait la même étude en 1920, sans avoir pris connaissance de mes recherches. Il est probable que MYERS a opéré sur le liquide total non centrifugé, car les chiffres qu'il donne sont plus forts que les miens en ce qui concerne l'azote total et l'azote non protéique total. Pour 100 cmc. de liquide cavitairé (*Strongylocentrotus francescanus*) il a trouvé : 1° N total = 12 mgr.; 2° N non protéique = 8,6 mgr.; 3° N urée = 0,92; 4° N ammoniaque = 0,08.

Il a signalé, en outre, la présence en quantité très faible de créatinine et de créatine et de traces d'acide urique. Les résultats de Myers et les miens concordent sensiblement en ce qui concerne la présence d'ammoniaque et d'urée en quantité faible mais dosable; et d'une façon plus générale démontrent que le liquide cavitairé n'est pas, comme l'a soutenu COHNHEIM, contrairement d'ailleurs à ses propres recherches, de l'eau de mer pure.

Cette opinion a, néanmoins, été de nouveau soutenue en 1923 par van der HEYDE, qui estime qu'on ne trouve dans le liquide cœlomique ni ammoniacque, ni urée, ni créatinine, et que le seul déchet azoté qui puisse y être décelé est de l'acide urique.

Observations personnelles. — La technique qui a été utilisée pour capter les déchets azotés évacués par l'Oursin (*Paracentrotus lividus* L.) dans le milieu extérieur, a été la même que pour les Astéries. Le liquide d'excrétion n° 1 a été recueilli à Guéthary et le liquide 2 à Arcachon en octobre 1924; dans le tableau qui suit, sont consignés les résultats des analyses.

TABLEAU I

	Mgr N dans 100 ccm			Repartition de N (Rapport pour 100)		
	Eau de mer 1	Eau de mer 2	Liquide cavi- taire centri- fugé	Eau de mer 1	Eau de mer 2	Liquide cavi- taire centri- fugé
N non proteique total.....	0,60	0,84	3,74	—	—	—
N (N H ³)	0,18	0,22	0,24	30,00	26,2	6,4
N (N H ²).....	0,15	0,24	2,40	23,00	23,5	64,2
N urée.....	0,03	0,08	0,12	5,0	10,0	3,2
N formol + N urée.....	0,35	0,54	2,72	60,0	64,7	73,8
N purique	—	0,09	0,23	—	11,0	6,0
N acide urique	traces	0,007	0,07	—	1,0	1,6
N PhW filtrat.....	0,14	0,36	3,22	23,0	43,0	86,0
N PhW précipité	0,46	0,54	0,52	77,0	57,0	14,0
N dosé.	0,35	0,63	2,95	60,0	75,7	79,8
N indéterminé	0,25	0,21	0,79	10,0	24,3	20,2

De l'examen de ce tableau, il ressort que l'on trouve en petite quantité des déchets azotés dans l'eau de mer où ont vécu les animaux. Dans une large mesure (70 pour cent environ) il est possible d'identifier ces déchets, qui appartiennent pour la majeure partie (50 pour cent environ) à de l'azote titrable au formol, azote aminé et azote ammoniacal. L'excrétion d'azote sous forme d'urée et de corps puriques est bien moins importante; elle ne dépasse pas 10 pour cent de l'excrétion azotée totale.

Il est possible de retrouver dans le liquide d'excrétion de l'acide urique, mais seulement à l'état de traces, de telle sorte qu'on ne peut admettre avec van der HEYDE que ce corps représente le principal déchet azoté. Tout au plus forme-t-il 1 pour cent de l'azote excrété.

Dans le liquide cavitairé, on retrouve les mêmes déchets que dans l'eau de mer, mais leur rapport avec l'azote total est différent. C'est ainsi que l'azote aminé s'y trouve en quantité bien plus forte (60 %) que l'azote ammoniacal (6 %), alors que dans l'eau de mer où ont vécu les animaux, on trouve à peu près, pour l'azote aminé et pour l'azote ammoniacal, le même rapport (25 à 30 %). Il existe donc, pour l'Oursin comme pour l'Astérie, une excrétion avec sélection élective, et non pas une excrétion par diffusion. Les membranes qui séparent le liquide coelomique de l'eau de mer se comportent bien comme des membranes semi-perméables ainsi que l'ont déjà montré les expériences de V. HENRI et LALOU. Enfin, la quantité d'acide urique contenue dans le liquide cavitairé est très faible, puisqu'elle n'atteint pas 2 % de l'N total.

B. — SUR LA NATURE DES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS QUELQUES ORGANES (INTESTIN, ORGANES GÉNITAUX)

Données antérieures. — Chez l'Oursin, comme chez l'Astérie, il n'existe pas d'émonctoire bien différencié. On admet en général que les déchets solubles sont éliminés au niveau des organes respiratoires (branchies buccales) et de l'intestin, dont le rôle excréteur est important. L'excrétion paraît localisée à la deuxième partie de l'intestin, celle qui commence à partir de la deuxième courbure et se distingue de la première par le fait

que l'intestin est incolore. La première partie, riche en ferments digestifs, est, au contraire, fortement colorée en brun. CUÉNET a montré que certaines substances injectées dans la cavité générale sont fixées et excrétées surtout au niveau de la deuxième partie de l'intestin. Van der HEYDE a réussi à caractériser la présence d'acide urique dans l'intestin particulièrement dans les parties terminales. C'est en se basant sur cette observation qu'il a été conduit à considérer l'intestin comme l'organe principal de l'excrétion, et l'acide urique comme le déchet azoté le plus important chez les Échinodermes.

Observations personnelles. — Dans l'extrait désalbuminé de l'intestin (deuxième partie) et dans celui des organes génitaux, nous avons dosé les principaux déchets azotés. Les résultats

TABLEAU II

	INTESTIN				ORGANES GÉNITAUX			
	Mgr N (pour Xgr)		Rapport p. 100		Mgr N		Rapport p. 100	
					p. x gr	p. 10 gr.		
	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2
N non protéique total	36,0	35,10	—	—	55,50	51,00	—	—
N (NH ₃)	2,90	1,00	8,0	2,8	1,43	1,00	2,6	1,9
N (NH ₂)	18,40	19,00	51,0	55,8	30,20	33,00	54,4	61,7
N Urée	0,40	0,18	1,1	0,5	1,06	0,30	1,9	0,5
N Purique	2,40	1,60	6,6	4,5	3,50	3,00	6,3	5,9
N A. Urique	0,16	0,16	0,4	0,4	traces	traces	—	—
N PhW filtrat	29,50	27,00	81,0	76,3	15,40	11,00	72,2	80,3
N PhW précipité	6,70	8,40	19,0	23,7	16,00	10,00	27,8	19,7
Glycogène (mg)	—	19,60	—	—	—	150,00	—	—

sont réunis dans le tableau II (page 68); ils n'ont pas été rapportés à 100 gr. de tissu, mais à x grammes, l'organe n'ayant pas été pesé.

Il n'est pas douteux que, comme l'a vu van der HEYDE, la réaction de l'acide urique est particulièrement intense au niveau de l'intestin; mais il ne s'ensuit pas que l'acide urique représente la principale substance azotée éliminée. Cette conclusion, en effet, qui ne s'accorde pas avec celle que nous avons déjà tirée des recherches déjà exposées sur la nature des déchets azotés présents dans des liquides d'excrétion et le liquide cavitare, ne s'accorde pas non plus avec les résultats de l'étude faite sur la répartition de l'azote non protéique dans l'intestin lui-même. L'acide urique ne s'y trouve pas en plus grande quantité que les autres déchets azotés : ammoniacque et urée. Au contraire, le rapport pour cent de N acide urique à N non protéique total est le plus bas (0,4 à 0,5 pour cent).

Il est très possible, toutefois, que l'intestin soit le lieu de formation et d'élimination de l'acide urique. Le fait que la quantité de ce corps présente dans l'intestin est très supérieure à celle contenue dans les organes génitaux laisse supposer qu'il en est ainsi.

En résumé, les résultats de nos recherches sur l'excrétion azotée de l'Oursin concordent dans l'ensemble avec ceux qui ont été obtenus chez les Astéries.

III. — *Holothuria tubulosa*

Données antérieures. — Peu de recherches ont été faites sur l'excrétion azotée de ces êtres, qui, d'ailleurs, se prêtent mal à ce genre d'étude. S'alimentant surtout avec du sable, leur activité digestive paraît très réduite au point de vue protéolytique. C'est ainsi que, d'après COHNHEIM, l'extrait intestinal de l'Holothurie est incapable de digérer des substances protéiques telles que la fibrine ou le muscle. Lorsque l'extrait intestinal est soumis à l'épreuve de l'autolyse, à la température du laboratoire ou à l'étuve, en présence de toluol, pendant une semaine, il ne se produit pas d'autodigestion. Après désalbumination, la réaction de Biuret s'est montrée négative dans le liquide, qui donnait avec le réactif PhW un léger précipité. Le filtrat

PhW ne contenait, après évaporation, ni leucine, ni tyrosine.

La seule recherche qui ait été faite sur la nature des déchets azotés évacués dans le milieu extérieur est due à COHNHEIM, qui a opéré de la façon suivante. Les animaux ont été placés dans un vase rempli d'eau de mer, fermé par un bouchon à deux trous. Grâce à un tube plongeant au fond du vase, un courant d'oxygène traversait l'eau de mer et barbotait ensuite dans un flacon laveur, contenant une solution titrée d'acide sulfurique, pour capter l'ammoniaque. Dans ces conditions, après l'expérience, qui a duré quarante-huit heures, le titre de la solution n'a pas varié, ce qui démontre, d'après l'auteur, qu'il ne s'est formé ni ammoniaque ni bases volatiles. En outre, le dosage de N total par la méthode de KJELDAHL, effectué comparativement dans l'eau de mer où avaient vécu les animaux et l'eau de mer témoin, montre que les deux liquides contiennent aussi peu d'azote l'un que l'autre. Par contre, le même dosage, effectué sur les matières évacuées par l'intestin, a permis de mettre en évidence la présence en quantité notable d'N, soit, par exemple, 17,6 mgr. pour les matières évacuées en deux jours par trois grosses Holothuries, récemment capturées. En se basant sur ces faits, O. COHNHEIM est arrivé à cette conclusion que chez les Holothuries la seule voie d'excrétion pour les déchets azotés est l'intestin.

La critique des recherches de COHNHEIM a été faite par R. BURIAN, qui n'a pas accepté cette conclusion.

Vu la très petite quantité d'N excrété par les Holothuries, il est évident, d'après BURIAN, qu'on ne peut trouver dans l'eau de mer où ont vécu les animaux pendant quarante-huit heures que des traces d'azote. L'analyse de COHNHEIM n'ayant porté que sur une partie seulement du liquide d'excrétion, on s'explique aisément le résultat négatif obtenu par l'auteur. D'autre part, la présence en quantité notable d'N dans les matières rejetées par l'animal n'a pas, pour BURIAN, la valeur démonstrative que lui accorde COHNHEIM. Il n'est pas certain que l'N doisé soit de l'N excrété. Il peut provenir dans une large mesure de matériaux azotés d'origine alimentaire, qui n'ont pas été assimilés. C'est ainsi que, par le calcul, BURIAN estime

à 6,0 mgr. la quantité maxima d'N qui a pu être excrétée, alors que COHNHEIM a trouvé 17,6 mgr. dans l'expérience déjà citée. Il n'est donc pas certain que les déchets azotés de l'Holothurie se retrouvent seulement dans les matières évacuées par l'intestin.

Les recherches qui ont porté sur le liquide cavitaires sont, elles aussi, peu nombreuses. Dans 100 cmc du liquide, débarrassé des éléments figurés, O. COHNHEIM a trouvé un peu plus d'azote total (2,5 mgr) que dans l'eau de mer (0,4 mgr); il conclut néanmoins que le liquide est de l'eau de mer pure. Chez *Holothuria tubulosa*, L. SANZO a dosé l'urée, par sa méthode, qui a été déjà décrite (cf. chapitre II technique). Dans deux analyses, il a trouvé respectivement, pour 100 cmc, 0,783 et 1,051 mgr, soit en moyenne 0,91 mgr d'urée, quantité qui est environ trois fois moindre que celle qui a été trouvée par le même auteur dans le liquide cavitaires des Echinides.

En ce qui concerne la recherche des déchets azotés au sein des organes, BORDAS a fait une observation intéressante, qui, toutefois, mérite confirmation, car elle n'a pas été trouvée exacte par SCHULTZ. Il a signalé la présence d'acide urique dans l'extrait des poumons aquatiques de l'Holothurie, organes qui, comme on sait, jouent un rôle respiratoire et excréteur, analogue à celui des branchies dermiques des Ascidaires et des branchies buccales des Oursins. Signalons enfin que la présence d'acide urique a été encore signalée par van der HEYDE dans la partie terminale de l'intestin de *Thyone briareus*.

Recherches personnelles. — Elles ont porté sur les grandes Holothuries, que l'on trouve assez facilement à Guéthary, par les grandes marées, sous les pierres littorales. D'après CUÉNOT, l'Holothurie de Guéthary est certainement *H. tubulosa* Gmelin.

Comme pour les autres Echinodermes, nous avons recherché les déchets azotés : 1° dans l'eau de mer où avaient séjourné les animaux; 2° dans le liquide cavitaires; 3° dans certains organes considérés comme organes d'excrétion, c'est-à-dire dans l'extrait désalbuminé de l'intestin et du poulmon.

La récolte des déchets azotés dans l'eau de mer présente des difficultés, car il arrive souvent qu'au cours de l'expérience,

le tube digestif de l'animal est évacué entièrement. D'autre part, les circonstances ne nous ayant pas encore permis de répéter et de compléter nos recherches, faites en octobre 1923, nous en donnons seulement les résultats à titre d'indication, nous réservant de les compléter plus tard. Pour l'intestin et le poumon, les dosages n'ont pas été rapportés à 100 gr., mais à une quantité indéterminée.

Mgr N.	Eau de mer	Liquide cavi- taire	Intestin N° 1	Intestin N° 2	Poumon
	100 ccm	100 ccm	Xgr.	Xgr.	Xgr.
N non protique total.....	0,32	1,10	24,00	7,65	8,25
N (NH ³ et bases volatiles).....	0,13	0,14	2,20	0,71	0,35
N (NH ²)	0,06	0,40	8,00	2,74	1,40
N urée.....	0,62	0,07	0,64	0,07	0,15
N purique.....	0,04	0,06	1,10	0,25	0,55
N acide urique	9,00	—	Traces	0,00	—
N PhW filtrat	0,11	0,60	10,10	—	—
N PhW précipité.....	0,24	0,55	15,00	—	—
N non dosé	0,06	0,44	13,04	3,88	6,80

Il se dégage de l'examen des résultats obtenus qu'il n'existe pas de différence essentielle entre l'excrétion azotée des Holothuries et celle des autres Echinodermes. A vrai dire, les déchets azotés se trouvent en plus petite quantité dans le liquide cavitare et dans l'eau de mer où ont vécu les animaux, mais le fait peut s'expliquer par la nature de leur alimentation et le peu d'intensité de leurs échanges azotés. Contrairement à l'opinion de COHNHEIM, il n'est pas douteux que l'ammoniaque dont la présence est générale, et qui forme une

partie notable (10 %) de N de l'extrait désalbuminé de l'intestin, est un des déchets principaux de l'excrétion de ces êtres.

* * *

De l'ensemble des recherches qui viennent d'être exposées sur l'excrétion azotée des Astéries, des Oursins et des Holothuries, il se dégage quelques faits, qui peuvent être ainsi résumés :

1° L'eau de mer dans laquelle ont vécu des Echinodermes contient en petite quantité des déchets azotés solubles, les mêmes que ceux qu'il est possible de retrouver dans le liquide cavitaires. On ne peut donc admettre que, chez ces êtres, l'excrétion s'effectue seulement sous forme de corps azotés peu solubles ou insolubles, évacués par l'intestin, mode d'excrétion que O. COHNHEIM considère comme étant seul en jeu chez les Holothuries ;

2° L'excrétion azotée des Echinodermes ne consiste pas en une simple phénomène de diffusion ou d'osmose à travers la membrane qui sépare le milieu intérieur du milieu extérieur. L'étude comparée de la répartition de l'azote non protéique dans le liquide cavitaires et dans l'eau de mer où ont vécu les animaux démontre, en effet, la réalité d'une certaine sélection élective en vue de l'élimination des déchets azotés. C'est ainsi que l'azote ammoniacal contenu dans le liquide cavitaires est excrété, toutes choses égales, bien plus activement que l'azote aminé ;

3° Dans une large mesure (60 à 70 % environ) il est possible d'identifier les déchets azotés solubles évacués dans le milieu extérieur. L'azote titrable au formol forme plus de la moitié de l'azote excrété; l'excrétion ammoniacale est en général plus intense que celle de l'azote aminé. L'urée est excrétée en assez faible quantité, ainsi que l'azote purique;

Il existe bien des traces d'acide urique dans l'organisme des Echinodermes, en particulier dans le liquide cavitaires et les organes digestifs, mais, vu la quantité infime de ce corps dans l'eau de mer où ont vécu les animaux (moins de 1 0/0

de N total), on ne peut admettre avec van der HEYDE que l'acide urique représente le principal déchet azoté de l'excrétion.

5° Les déchets azotés paraissent se former principalement dans les organes digestifs, dans les cœcums radiaux chez les Astéries, dans l'intestin chez les Oursins et les Holothuries, et avoir pour origine, dans une certaine mesure, les mutations chimiques nécessaires pour la transformation en produits sexuels des matériaux azotés d'origine alimentaire.

VERS

L'excrétion des Vers a été l'objet de nombreuses recherches, mais pour ces êtres, comme pour les Echinodermes, les processus histo-physiologiques ont été beaucoup plus étudiés que les processus biochimiques.

A l'aide de la méthode des injections de matières colorantes dans la cavité générale, KOWALEVSKI, L. CUÉNOT, J. DARBOUX, M. ABELOOS, M. ROMIEU, etc. ont mis en évidence le rôle important que jouent certaines cellules et certains tissus dans l'excrétion, en dehors des néphridies dont la fonction excrétrice est connue depuis longtemps.

Les cellules excrétrices, appelées par CUÉNOT et par BRUNTZ des néphrocytes et des néphrophagocytes, désignées par GRAF sous le nom de tissus excrétophores, seraient capables de fixer électivement non seulement certaines matières colorantes mais les déchets solubles ou insolubles, de les rassembler dans les vacuoles à l'état solide ou demi-solide, sous forme de granulations.

Ce sont, par exemple, le corps cardiaque des Annélides (M. ROMIEU), les cellules du péritoine pariétal, certaines cellules libres du liquide cœlomique (hématies, amibocytes jeunes, urnes ciliées des Sipunculiens, d'après CUÉNOT), les cellules dites « chloragogènes » riches en granulations brunes et jaunes, qui tapissent l'intestin des Oligochètes, etc.. La nature chimique des granulations contenues dans les cellules excrétrices est encore mal connue. Un bon exposé de la question a été fait par BURIAN dans son article sur l'excrétion des vers. Il conclut d'une façon très générale que les granulations des tissus excrétophores sont de même nature que celles des néphridies. Elles seraient constituées par des corps chitineux et des composés puriques.

La présence de guanine a été très souvent signalée dans les granulations.

Vu l'abondance des granulations puriques chez certaines espèces, chez les Annélides par exemple, BURIAN estime qu'il est possible d'admettre que les corps puriques des granulations se forment par synthèse aux dépens des déchets azotés provenant de la dégradation des protides, par un processus analogue à celui de la formation de l'acide urique chez les Oiseaux.

S'il en est ainsi, on devrait admettre que l'excrétion azotée des Vers s'effectue principalement sous la forme de corps puriques. A l'appui de cette opinion il est possible de citer encore les recherches de D. ACKERMANN et F. KUTSCHER qui ont signalé la présence d'adénine dans les matières extractives du Lombric et admis que l'adénine représente le déchet azoté le plus important de ce Ver.

Mais, pour admettre cette hypothèse, basée seulement sur la présence de corps puriques dans les tissus excrétophores et dans les matières extractives, il serait nécessaire de connaître exactement, comme l'a d'ailleurs fait remarquer BURIAN, la composition du liquide excrété par les néphridies et d'une façon plus générale la nature et l'importance relative des déchets évacués dans le milieu extérieur. A ce point de vue la question reste très obscure, car les recherches chimiques qui ont été faites dans cette direction sont peu nombreuses et ne concordent pas avec les données histo-chimiques.

C'est ainsi que J. LESSER, qui a étudié les déchets azotés évacués dans le milieu extérieur par les Vers de terre n'a pas trouvé d'azote purique, et que PUTTER chez la Sangsue a trouvé seulement 1,4 mgr d'azote purique pour 80,9 mgr d'azote excrété (1.75 %).

Ces faits laissent supposer que les déchets azotés solubles prennent une place importante dans l'excrétion et qu'il n'est pas prudent d'admettre que l'excrétion s'effectue principalement sous forme de corps puriques, en se basant seulement sur la présence dans les cellules excrétrices de granulations de nature purique. Dans l'ensemble nos recherches démontrent le bien fondé de cette opinion.

I. — *Aphrodite aculeata*

Données antérieures. — G. DARBOUX (1899) a constaté, à l'aide de la méthode des injections, que des matières colorantes (indigo-carmin, fuchsine acide, vésuvine, safranine, vert de méthyle), injectées dans le coelome, sont fixées par certaines cellules des cœcums de l'intestin, alors que d'autres matières colorantes, telles que le carminate d'ammoniaque et le tournesol bleu sont éliminées par les néphridies. Il a recherché comparativement, par le procédé de MARCHAL, la présence d'acide urique dans les cœcums et dans les néphridies. N'ayant obtenu un résultat positif que pour les cœcums, il a conclu que « les cœcums sont des reins à indigo-carmin excréant normalement, comme la plupart des reins de cette catégorie, des dérivés de l'acide urique. Cette fonction excrétrice est localisée dans les cellules à vacuoles ».

Dans le liquide de coloration brune, contenu dans les cœcums, la présence de corps puriques a été signalée par BURIAN. Le liquide est débarrassé des phosphates. Après filtration, il se forme un précipité abondant par addition de la mixture ammoniac-magnésienne et de la solution ammoniacale d'azotate d'argent. L'identification des composés puriques du précipité argentique n'a pu être faite, par suite de la trop petite quantité de suc. Toutefois, la présence de guanine a été constatée, ainsi que l'absence d'acide urique.

Lorsque j'ai étudié, en 1912, la répartition de l'azote non protéique dans le liquide cavitair de quelques Vers, j'ai signalé chez l'*Aphrodite* la présence d'une très petite quantité d'ammoniaque et d'azote titrable à l'hypobromite de soude.

Recherches. — N'ayant eu à ma disposition que quelques *Aphrodites* il ne m'a pas été possible d'identifier les déchets azotés contenus dans l'eau de mer où avaient vécu ces animaux ; j'ai étudié seulement la répartition de l'azote non protéique

dans leur liquide cavitaire, dans le suc des cœcums, et enfin, comme terme de comparaison, dans le muscle.

Les résultats obtenus ont été réunis dans le tableau suivant :

	Mgr d'N			
	Dans 100 ccm			Dans 100 gr.
	Liquide cavitaire N° 1	Liquide cavitaire N° 2	Liquide des cœcums	Muscle de la Trompe
N protéique	5,5	36, 0	—	—
N non protéique total.....	4,5	30,0	912,0	765,0
N (N H ₃).....	0,6	0,7	23,0	41,6
N (N H ₂)	1,6	40,5	358,0	335 0
N (Urée).	0,5	0,8	2,5	1,6
N Purique	—	—	—	19,5
N (A Urique)...	0.05	0,06	7,0	0,0

Le liquide cavitaire N° 1 était clair, limpide comme de l'eau de mer ; il ne contenait pas en suspension d'éléments génitaux. Sa composition s'est montrée assez voisine de celle du plasma des Echinodermes, en ce sens qu'il renferme lui aussi une quantité notable d'ammoniaque et d'urée et très peu d'acide urique, ce qui laisse supposer que l'azote formol et l'azote urée jouent un rôle important dans l'excrétion.

Le liquide cavitaire N° 2 était opalescent, par suite de la présence d'éléments génitaux. On s'explique ainsi sa plus forte teneur en azote protéique, et aussi sa teneur élevée en azote

non protéique total et en azote aminé. Par contre les déchets azotés, ammoniacque, urée et acide urique, s'y trouvent sensiblement dans la même proportion que pour le liquide cavitair N° 1. Les éléments génitaux ne retiennent pas les déchets azotés alors qu'ils fixent et utilisent pour leur développement les matériaux azotés libérés dans les cœcums au cours de la protéolyse digestive.

Le liquide brun des cœcums est, d'après sa constitution chimique, un suc nutritif destiné à l'assimilation. Il est en effet très riche en acides aminés et contient une quantité notable de peptones. D'autre part, il ne contient, par rapport à l'azote non protéique total, qu'une petite quantité de déchets azotés, dont il est difficile de saisir l'origine. C'est ainsi que l'ammoniacque contenue dans le suc peut avoir une double origine. Elle peut être d'origine exogène, c'est-à-dire prendre naissance au cours de la protéolyse digestive, ou d'origine endogène, c'est-à-dire être excrétée par les cellules des cœcums. Nous avons déjà signalé que d'après DARBOUX les cellules à vacuoles des cœcums excrètent de l'acide urique. La présence en quantité notable de ce corps dans le suc des cœcums vient à l'appui de cette opinion, mais il est possible aussi qu'une partie de l'acide urique soit d'origine exogène.

II. — *Lumbricus agricola*

J. LESSER a laissé un grand nombre de Vers de terre (100 environ) dans un récipient pendant 24 heures, et les a ensuite lavés ainsi que le récipient. Le liquide a été concentré. Malgré la présence d'une certaine quantité d'azote total dans ce liquide, l'auteur n'a pu identifier la présence d'urée, d'acide urique et de bases puriques. Il a signalé seulement des traces d'ammoniacque. BURIAN a critiqué la technique mise en œuvre par LESSER pour la récolte des déchets azotés. Se basant sur le fait que le contenu des néphridies n'est évacué que par intermittence, et assez rarement, il estime que, même en opérant sur un grand nombre d'animaux, la durée de 24 heures pour la récolte est insuffisante.

Les recherches qui ont été faites sur la nature chimique des granulations et des sphérules contenues dans les néphridies et les excrétophores sont plus nombreuses, mais elles n'ont pas abouti à des résultats satisfaisants.

En opérant sur de nombreux *Lombrics* GRIFFITHS dit avoir obtenu une petite quantité de liquide néphridien, dans lequel il a signalé l'absence d'urée et la présence d'acide urique (reaction de la murexide positive); mais les résultats avancés par cet auteur ont été souvent mis en doute.

D'après WILLEM et MINNE (1899) les granulations que l'on trouve dans le canal cilié et dans l'ampoule des néphridies seraient constituées par de la guanine. Il en serait de même des granulations des chloragènes, cellules excrétrices qui tapissent l'intestin. La présence de guanine a été recherchée à l'aide de la méthode de WEYL.

D'après les mêmes auteurs, les « cellules à bactéroïdes » des Vers de terre seraient en réalité des cellules à acide urique. BORTOLOTTI a admis, sans base sûre, que les granulations des chloragènes du *Lombric* étaient formées d'acide urique. L'adénine a été signalée par ACKERMANN et KUTSCHER dans les matières extractives de ce Ver.

Recherches. — La récolte des déchets azotés évacués dans le milieu extérieur par les Vers de terre présente des difficultés. Lorsque les animaux viennent d'être capturés, ils évacuent, pendant plusieurs jours, une quantité abondante de matières terreuses qui se mélangent aux produits d'excrétion, et peuvent fausser les résultats.

Pour obvier à cette cause d'erreur, j'ai pris soin d'étudier l'excrétion des Vers en deux temps. Dans une première période les animaux frais sont après lavage mis dans un cristalliseur contenant quelques centimètres cubes d'eau. Matin et soir, les animaux sont lavés à l'eau distillée. Les eaux de lavage, souillées de terre, sont filtrées, puis acidifiées par l'acide trichloracétique. Elles sont filtrées de nouveau jusqu'à obtention d'un liquide clair. Lorsque l'intestin des animaux est vide, ce qui demande huit jours environ, on effectue une deuxième récolte dans des

conditions meilleures, puisque l'on n'a plus à craindre le mélange des déchets avec les matières terreuses. En outre, pour éviter la cause d'erreur signalée par BURIAN, provenant du fait

	Recherches N° 1				Recherches N° 2			
	Animaux en digestion		Animaux à jeun		Animaux en digestion		Animaux à jeun	
	Mgr N p. 100 ccm	Rap- port o/o	Mgr N p. 100 ccm	Rap- port o/o	Mgr N p. 100 ccm	Rap- port o/o	Mgr N p. 100 ccm	Rap- port o/o
N non protéi- que	1,50	—	2,20	—	1,50	—	2,00	—
N (N H ³) . . .	0,70	46,6	0,45	20,4	0,72	48,0	0,94	47,0
N (N H ²) . . .	0,30	20,0	0,27	12,2	0,24	16,0	0,30	15,0
N Urée	0,18	12,0	0,84	38,1	0,09	6,0	0,20	10,0
N Purique . . .	0,09	6,0	—	—	0,07	4,6	0,35	17,5
N A Urique . .	0,00	0,0	—	—	0,00	0,0	—	0,0
N Ph W Filtrat	1,10	73,4	1,70	73,3	1,25	83,3	1,60	80,0
N Ph W précipité . . .	0,40	26,6	0,60	26,7	0,25	16,6	0,40	20,0
N dosé	1,27	84,0	1,56	70,7	1,12	74,6	1,79	89,5
N indéterminé	0,23	16,0	0,64	29,3	0,38	25,4	0,21	10,5

que le contenu des nephridies est évacué rarement, j'ai recueilli les déchets évacués pendant au moins huit jours.

Cette étude a été faite deux fois (Recherches 1 et 2). En outre, j'ai recherché les déchets azotés dans l'extrait désalbuminé de

de l'animal entier. Dans le tableau (page 101), j'ai réuni les résultats relatifs à la répartition de l'azote non protéique dans les liquides contenant les déchets azotés évacués dans le milieu extérieur. Les animaux sont considérés comme étant en digestion tant que l'eau de lavage a été souillée de matières terreuses.

Chez les animaux en digestion l'excrétion uréique est faible (6 à 12 %) ; la majeure partie des déchets azotés (65 % environ) appartient au groupe de l'azote formol, avec prépondérance de l'azote volatil (47 %) sur l'azote fixe (18 %). Chez les animaux à jeun des résultats du même ordre ont été obtenus pour la recherche N° 2, mais pour la recherche N° 1 l'excrétion uréique s'est montrée beaucoup plus élevée (38 %) que l'excrétion ammoniacale (20 %). Il est possible qu'une partie de l'urée se transforme en ammoniacque en présence des matières terreuses.

Que les animaux soient à jeun ou en digestion, il excrètent une petite quantité d'azote purique ; mais cette excrétion est trop faible pour qu'on puisse la considérer comme l'excrétion principale. Enfin, on ne trouve pas d'acide urique, ou l'on en trouve seulement des traces, dans le liquide contenant les déchets azotés, malgré la très grande sensibilité du réactif arsénologique.

L'étude de la répartition de l'azote non protéique dans l'extrait désalbuminé de l'animal total m'a donné des résultats concordants, en ce sens que l'extrait contient seulement des traces d'acide urique (moins de 0,3 mgr pour 100 gr. de tissus), alors qu'il renferme une quantité bien plus forte d'azote appartenant à l'ammoniacque (10 mgr) et à l'urée (12 mgr).

III. — *Sipunculus nudus*

À ma connaissance aucun auteur n'a encore cherché à caractériser la nature des déchets azotés solubles évacués par le Siponcle dans le milieu extérieur. Les recherches qui ont eu pour but de déterminer la composition des granulations contenues dans les néphridies et dans les excrétophores n'ont pas

abouti à des résultats satisfaisants. C'est ainsi que LADREYT a trouvé de l'acide urique dans les amas bruns qui se forment dans les néphridies par condensation des granules et sont ensuite évacués, alors que SULIMA n'a pu identifier ce corps dans l'extrait des néphridies ainsi que dans celui des excrétophores des vaisseaux de Poli. Dans le liquide cavitairé du Siponcle j'ai déjà signalé la présence d'une petite quantité d'ammoniaque et d'urée, mais ces recherches étaient insuffisantes pour apprécier l'importance relative de ces déchets dans l'excrétion azotée. Récemment (1926), A. DAMBOVICEANU, qui n'a pas pris connaissance de mes recherches, n'a pas trouvé d'urée dans le plasma du Siponcle.

Au point de vue histo-physiologique l'excrétion des Sipunculien est mieux connue. A l'aide de la méthode des injections physiologiques, CUÉNOT a bien mis en évidence la fonction excrétrice de certaines cellules ou organes.

Ce sont: 1°, les *hématies* à hémérythrine du liquide coelomique et des vaisseaux de Poli, qui renferment des vacuoles d'excrétion, dont le liquide contient de petits granules jaunes à mouvements browniens et se colore par le carmin soluble, le bleu de méthylène; 2°, les *néphridies*, qui éliminent l'indigocarmin, la fuchsine acide et contiennent des boules d'excrétion à réaction acide; 3°, des cellules péritonéales ou chloragènes douées d'un fort pouvoir leucocytaire; 4°, les amibocytes au stade jeune, qui chez *Sipunculus nudus* paraissent avoir un rôle de suppléance vis-à-vis des chloragènes qui sont peu abondants; 5°, les urnes fixées à la surface externe de l'intestin ou libres dans le coelome.

La nature des granulations jaunes fabriquées par les amibocytes excréteurs, les hématies, etc., est inconnue. D'après CUÉNOT, ce n'est certainement pas de l'acide urique, comme l'a avancé LADREYT.

Signalons enfin que LADREYT attribue la pigmentation brune du Siponcle, pigmentation qui augmente avec l'âge de l'animal, à l'imprégnation de la peau par les granulations contenues dans les excrétophores.

Recherches. — La récolte des déchets a été faite suivant la

méthode habituelle. Trente siponcles qui venaient d'être capturés ont été lavés puis placés au fond d'un large cristalliseur, contenant de l'eau de mer en quantité suffisante pour que les animaux soient recouverts. Le liquide a été renouvelé après 12 heures. Les animaux encore bien vivants ont été retirés après 24 heures et sacrifiés. J'ai recueilli aussitôt le liquide cavitairé, la masse intestinale, les néphridies, et le muscle œsophagien. Une partie du liquide cavitairé a été soumise à la centrifugation afin d'étudier comparativement la composition du plasma et du liquide total. En outre j'ai préparé l'extrait désalbuminé des éléments figurés du sang, contenus dans le culot de centrifugation, après avoir séparé autant que possible les hématies des éléments blancs.

Les résultats analytiques, relatifs à l'étude comparée de la répartition de l'azote non protéique dans l'eau de mer, le plasma et le liquide cavitairé total ont été réunis dans le tableau I.

Dans l'eau de mer contenant les déchets azotés solubles évacués par le Siponcle, 65 p. 100 environ de l'azote éliminé appartiennent au groupe formol. L'azote aminé est excrété en quantité beaucoup plus faible (16,6 %) que l'azote ammoniacal (50 %). L'excrétion d'urée n'est pas négligeable ; elle atteint environ 10 % de l'azote excrété, mais on peut se demander si elle ne serait pas diminuée du fait de la transformation en ammoniacque d'une partie de l'urée excrétée au cours de la récolte des déchets, car, comme pour les Vers de terre, le liquide est souillé par l'évacuation de sable mélangé à de la vase. Il ne semble pas en être ainsi. Le rapport % de l'azote urée à l'azote total non protéique est en effet relativement plus élevé dans l'eau de mer contenant les déchets que dans le plasma du liquide cavitairé.

L'excrétion azotée sous forme de corps puriques solubles est très faible (4 %); mais pour connaître exactement la valeur quantitative de l'excrétion purique, il eut été nécessaire de déterminer l'azote purique contenu dans les excréta insolubles, en particulier dans les amas bruns évacués par les néphridies. Cette recherche n'a pas été faite, mais dans l'extrait désalbuminé des néphridies je n'ai trouvé qu'une petite quantité (5,6 %) d'azote purique.

TABLEAU 1.

	Mgr N dans 100 ccm			Rapport o/o		
	Eau de mer	Plasma du Liquide cavitaires	Liquide cavitaires total	Eau de mer	Plasma du Liquide cavitaires	Liquide cavitaires total
N non protéique total.....	0,72	11,20	76,20	—	—	—
N (N H ³)	0,36	1,30	0,80	50,0	11,6	1,0
N (N H ²)	0,12	1,60	29,00	16,6	14,3	38,0
N Urée	0,07	0,60	9,00	9,7	5,3	11,8
N Purique	0,03	0,47	1,20	4,1	4,2	1,5
N A Urique	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0	0,0
N Ph W (filtrat).	0,21	3,00	58,10	29,1	26,8	76,3
N Ph W (précipité)	0,51	8,20	18,10	70,9	73,2	23,7
N dosé	0,58	3,97	40,00	80,6	35,4	52,3
N indéterminé ...	0,14	7,23	36,20	19,4	64,6	47,7

La recherche de l'acide urique dans les liquides étudiés s'est montrée nulle ou douteuse, malgré la très grande sensibilité du réactif arséno-tungstique. L'absence d'acide urique chez le Siponcle paraît bien démontrée. SULIMA n'a pu déceler ce corps dans l'extrait des néphridies et PRZYLECKI a récemment montré que l'acide urique est rapidement dégradé lorsqu'il est mis en présence de tissus broyés du Siponcle.

Un autre fait curieux apparaît à l'examen du tableau I : la

teneur élevée en urée du liquide cavitare total par rapport au plasma. Tout se passe comme si certains éléments figurés du liquide cavitare se chargeaient d'urée, contrairement à ce qui se passe chez les vertébrés. On sait, en effet, que chez les vertébrés, pour un même volume, le taux de l'urée dans le sang total le plasma ou le sérum est sensiblement le même ; et aussi que l'urée très diffusible est répartie d'une façon à peu près uniforme dans tous les tissus, à l'exception du rein.

TABLEAU II.

	Plasma		Hématies		Éléments blancs	
	Mgr N p. 100 ccm	Rapport o/o	Mgr N p. X gr.	Rapport o/o	Mgr N p. X gr.	Rapport o/o
N non protéique .	11,20	—	45,00	—	16,20	—
N (N H ³)	1,30	11,6	0,80	1,8	0,70	4,3
N (N H ²)	1,60	14,3	21,00	46,6	7,00	43,0
N Urée	0,60	5,3	9,90	22,0	1,20	7,4
N Purique	0,47	4,2	0,75	1,7	1,05	6,3
N A Urique	0,00	—	0,00	—	Traces	—
N Ph W (filtrat).	3,00	26,8	31,80	70,6	13,40	82,8
N Ph W (précipité)	8,20	73,2	13,20	29,4	2,80	17,2

Dans ces conditions il était intéressant d'étudier comparative-ment la répartition de l'azote non protéique dans le plasma et dans l'extrait des éléments figurés. Les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau II.

La surcharge en urée des hématies du Siponcle ressort nettement de l'examen de ce tableau. Ce fait nouveau pose un certain nombre de questions intéressantes, qu'il me suffira de signaler, n'ayant pu encore en poursuivre l'étudé.

TABLEAU III.

	Intestin		Néphridies		Muscle	
	Mgr N P. X gr.	Rapport o/o	Mgr N P. X gr.	Rapport o/o	Mgr N P. 10 gr.	Rapport o/o
N non protéique .	43,20	—	23,00	—	83,0	—
N (N H ³)	0,73	1,7	0,90	3,6	1,3	1,8
N (N H ₂)	13,80	32,0	9,30	37,2	32,3	63,6
N Urée	0,21	0,3	0,42	1,7	0,4	0,3
N Purique	1,30	3,4	1,40	3,6	1,20	1,3
N Aurique	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0
N Ph W (filtrat) .	23,10	38,1	20,00	78,8	73,0	88,0
N Ph W (précipité)	18,10	41,9	3,00	21,2	10,00	12,0

On peut se demander tout d'abord s'il existe une localisation de l'urée dans les hématies. A ce sujet il est intéressant de rappeler l'existence dans les hématies de vacuoles d'excrétion bien décrites par CUÉNOT. Il serait en outre intéressant de savoir si l'urée est formée par l'hématie ou si elle est seulement soustraite du plasma et mise en réserve par cet élément.

Quant à la signification biologique du fait observé, on ne peut faire, bien entendu, que des hypothèses. Celle qui me paraît la

plus acceptable est la suivante. Le Siponcle vit enfoui dans la vase ; ses échanges avec le milieu extérieur sont pour cette raison assez difficiles. On admet, en général, que l'hémérythrine, pigment respiratoire contenu dans les hématies, permet à l'animal de résister plus longtemps au manque d'oxygène ; il est possible qu'inversement, grâce à l'accumulation d'urée dans les hématies, l'animal puisse résister plus longtemps à une auto-intoxication de nature carbonique ou ammoniacale.

Quoi qu'il en soit, il n'est pas douteux que l'hématie fonctionne comme un rein d'accumulation, dont l'urée représente le principal produit d'excrétion.

La répartition de l'azote non protéique dans la masse intestinale (intestin et son contenu), dans les néphridies et le muscle est donnée dans le tableau III.

On remarquera que le rapport % de l'azote urée à l'azote non protéique total, qui atteint 22 pour les hématies n'est que de 1,7 pour les néphridies et de 0,5 seulement pour l'intestin et le muscle. Il n'est pas douteux que seules les hématies ont le pouvoir d'accumuler de l'urée. La teneur en ammoniacque et en azote purique s'est montrée un peu plus élevée pour les néphridies que pour les autres tissus. Toutefois, les différences sont trop faibles pour qu'on puisse en tirer une conclusion. Il est possible que les granulations brunes contenues dans les néphridies soient en partie formées de corps puriques mais cela n'implique pas que l'excrétion azotée du Siponcle soit principalement une excrétion sous forme de corps puriques.

IV. — *Hirudo officinalis*

L'excrétion azotée de la Sangsue est actuellement la mieux connue, grâce aux recherches de A. PUTTER, de BIALASZEWITZ et de St J. PRZYLECKI.

A. PUTTER a étudié la répartition de l'azote dans l'eau où avaient vécu 200 sangsues pendant 100 heures, après avoir pris soin d'éliminer le mucus. Il a trouvé 80 mgr d'N total, dont la majeure partie (40 à 60 %) était formée d'ammoniacque. En outre, le liquide contenait 1,4 mgr d'N purique (1,8 %) et des traces de créatinine. Par contre, il ne renfermait ni urée, ni acide urique. Je n'ai pu prendre connaissance des recherches de BIALASZEWITZ.

En maintenant des sangsues dans l'eau distillée, à 22°, St J. PRZYLECKI a trouvé, par 24 heures et pour 100 grammes de poids, 13,2 mgr d'azote total, dont 76 % sous forme d'ammoniaque. Lorsque les animaux sont placés dans de l'eau faiblement alcaline (contenant 0,1 à 0,2% de $\text{CO}_3 \text{Na}^2$), l'excrétion de l'azote total ainsi que le rapport de l'azote ammoniacal à l'azote total sont diminués.

Les recherches chimiques et histo-chimiques, effectuées en vue d'identifier la nature des granulations d'excrétion des néphridies et des excrétophores, ont donné des résultats moins précis.

Les organes segmentaires renferment dans leur portion dilatée ou ampoule une substance gélatineuse et blanchâtre, qui se montre au microscope constituée par de nombreux globules et de fins cristaux. On peut, d'autre part, retirer des néphridies par ponction quelques gouttes de liquide.

GRIFFITHS a recueilli le liquide néphridien chez un grand nombre de Sangsues. Après addition d'une solution diluée de soude, puis d'acide chlorydrique il s'est formé au sein du liquide des cristaux donnant la réaction de la murexide et solubles dans une solution de carbonate de soude, l'auteur en conclut à la présence d'acide urique.

MARCHAL, qui a repris les recherches de GRIFFITHS, n'est pas arrivé au même résultat. Les cristaux, présents dans le liquide trouble retiré des néphridies, sont en forme d'aiguilles, ou ont l'aspect des cristaux de leucine, mais ils ne ressemblent pas aux cristaux d'acide urique. Après évaporation du liquide néphridien sur une lame de verre, la réaction de la murexide essayée sur le résidu donne une teinte orangée, mais cette teinte est banale et sans signification. Dans l'extrait des néphridies MARCHAL n'a pas trouvé d'acide urique. Par contre, il a signalé dans l'extrait alcoolique des mêmes organes la présence d'ammoniaque et de triméthylamine. Signalons enfin que R. Fosse a caractérisé l'urée dans l'extrait alcoolique et dans le suc cellulaire de la Sangsue à l'aide du xanthidrol et que d'après SPIESS les inclusions des cellules bothryoïdales seraient formées surtout d'un urate soluble.

Recherches. — La récolte des déchets azotés s'effectue dans de bien meilleures conditions pour la Sangsue que pour les Vers qui vivent dans la vase ou la terre. Dans un large flacon cylindrique à fort goulot, contenant environ 250 centimètres cubes d'eau de source, j'ai placé dix Sangsues de grosseur moyenne. Pour faciliter l'aération du liquide, le flacon est rempli incomplètement et est obturé à l'aide d'une compresse. Toutes les 24 heures le liquide est renouvelé. Les liquides contenant les déchets azotés sont réunis, après avoir été filtrés et acidifiés. J'ai étudié comparativement l'excrétion azotée des animaux à jeun et en digestion. Les liquides 1 et 2 ont été obtenus chez les animaux à jeun, les liquides 3 et 4 chez des animaux qui avaient auparavant été alimentés avec du sang de cheval. L'analyse a porté sur un litre de liquide, c'est-à-dire sur le liquide contenant les déchets azotés éliminés pendant 4 jours. Le liquide 3 a été obtenu pendant les 4 premiers jours qui ont suivi l'alimentation des animaux, et le liquide 4 pendant les 4 jours qui ont suivi. La conservation des liquides était assurée par l'acidification et aussi par l'addition d'une petite quantité de chloroforme.

Les résultats obtenus ont été réunis dans le tableau IV.

Le fait le plus important, qui se dégage de l'examen de ce tableau, est conforme aux données antérieures de A. PUTTER, de BIALASZEWITZ et de PRZYLECKI. L'azote volatil titrable au formol représente en effet 70 à 80 % de l'azote total excrété. Il est probable que l'ammoniaque forme la majeure partie de l'azote volatil, mais les recherches de MARCHAL laissent supposer que la part à attribuer à l'azote des amines n'est peut être pas négligeable. De nouvelles recherches sont nécessaires pour fixer ce point.

L'excrétion d'azote aminé est inférieure à 5 %. Elle est donc plus faible que celle des Echinodermes et des autres Vers. Cela semble indiquer que les processus d'excrétion chez la Sangsue sont plus parfaits, l'excrétion d'azote aminé pouvant être considérée comme une perte pour l'organisme.

L'excrétion d'urée n'est pas nulle, comme l'a avancé PUTTER, mais elle est très faible, correspondant seulement à 4 % de

l'azote total, chez les animaux à jeun. Aussitôt après l'alimentation en sang (liquide 3), l'excrétion uréique a été plus marquée (10 %), mais il est probable que la plus-value a eu pour cause l'excrétion de l'urée absorbée avec le sang, car dans le liquide 4, alors que les animaux étaient encore en pleine digestion, elle n'a pas persisté.

TABLEAU IV.

	Animaux à jeun				Animaux en digestion			
	Mgr N dans 100 ccm		Rapport o/o		Mgr N dans 100 ccm		Rapport o/o	
	N ^o 1	N ^o 2	N ^o 1	N ^o 2	N ^o 3	N ^o 4	N ^o 3	N ^o 4
N non protéique total ..	0,37	0,36	—	—	1,80	1,50	—	—
N (N H ₃) ...	0,43	0,28	78,9	77,7	1,28	1,17	71,1	78,0
N (N H ₂) ...	0,02	0,02	3,3	3,3	0,06	0,01	3,3	0,6
N (Urée)....	0,02	0,015	3,3	4,2	0,18	0,06	10,0	4,0
N Purique ..	0,03	0,02	5 2	3,3	0,07	0,03	3,8	2,0
N A Urique .	0,00	0,00	—	—	Traces	0,00	—	—
N Ph W Filtrat	0,26	0,18	43,6	47,3	0,72	0,63	40,0	42,0
N Ph W Précipité..	0,31	0,19	54,4	32,7	1,08	0,87	60,0	58,0
N dosé	0,32	0,335	91,3	90,9	1,49	1,27	88,2	84,6
N indéterminé	0,05	0,035	8,7	9,1	0,31	0,23	11,8	15,4

L'excrétion purique a varié de 2 à 5 %, ce qui semble bien démontrer que chez les Sangsues, comme d'ailleurs chez les autres Vers, les composés puriques ne se forment pas par synthèse à l'aide des déchets du métabolisme protéique. Enfin, comme l'avait bien vu MARCHAL, l'acide urique n'est pas un déchet normal de la Sangsue. On peut toutefois en rencontrer des traces dans l'eau contenant les produits d'excrétion, mais surtout lorsque les animaux viennent d'être alimentés avec du sang, ce qui laisse supposer que comme pour l'urée, il s'agit de l'excrétion de l'acide urique ingéré avec le sang.

*
* *

Conclusions. — Sous réserve de recherches nouvelles s'étendant à d'autres espèces ou de recherches complétant celles qui viennent d'être exposées, il apparaît qu'en général l'excrétion des Vers ne diffère pas beaucoup de celle des Echinodermes.

On retrouve, en effet, à la base de la désassimilation azotée les mêmes déchets solubles, qui sont, dans l'ordre, l'azote ammoniacal, l'azote aminé, l'azote uréique. Il est curieux de remarquer en particulier que, chez la Sangsue, il existe par rapport à l'urine des Vertébrés, une sorte d'inversion de la formule, en ce sens que, quantitativement, l'ammoniaque prend la place de l'urée et l'urée la place de l'ammoniaque.

Dans ces conditions, il paraît difficile d'accepter l'hypothèse émise par BURIAN, qui, se basant sur la présence de nombreuses granulations de nature purique dans les néphridies et les excrétophores, tend à admettre que chez ces Vers une partie des déchets provenant du métabolisme protéique, serait transformée par synthèse en corps puriques et excrétée sous cette forme. Il est plus probable que l'abondance des granulations puriques s'explique par la difficulté de l'excrétion de ces corps, par suite de leur moindre solubilité. L'acide urique n'est pas un produit de désassimilation que l'on rencontre habituellement chez les Vers, toutefois, sa présence dans le suc des cœcums de l'Aphrodite laisse ouverte la question de savoir s'il ne se formerait pas chez certaines espèces.

L'excrétion d'azote aminé n'est pas négligeable. Très inférieure à l'excrétion de l'ammoniaque et des bases azotées volatiles, elle est d'environ 10 à 20 % de N excrété pour les Vers qui vivent dans la vase, et seulement de 5 % pour la Sangsue.

L'excrétion d'azote uréique, bien que faible, est générale. Elle ne dépasse guère, le plus souvent, 10 % de l'N excrété, et s'abaisse à 4 % chez la Sangsue. Toutefois, chez des Vers de terre, à jeun, elle s'est élevée à 30 %, alors que l'excrétion de l'ammoniaque s'abaissait, ce qui laisse supposer qu'il existe un rapport inverse entre l'excrétion de ces deux déchets. Enfin, chez le Siponcle, nous avons pu mettre en évidence un fait curieux, dont nous avons essayé de donner une interprétation : la surcharge en urée des hématies du liquide cavitare.

CRUSTACÉS DÉCAPODES

Les glandes antennaires sont considérées comme l'organe principal de l'excrétion chez les Crustacés Décapodes. Leur structure anatomique a été bien décrite par MARCHAL (1892). Elles sont formées de trois parties, le saccule, le labyrinthe et la vessie. Chez les grands Crustacés, en particulier chez la *Maja*, il est facile de retirer de la vessie un liquide clair, que l'on considère comme de l'urine, il suffit, suivant les indications de MARCHAL, de soulever l'opercule qui obture l'orifice de la vessie et d'aspirer le liquide à l'aide d'une pipette. MARCHAL a pu retirer 17 cc. de liquide de la vessie d'une grosse *Maja*. Le liquide se reforme rapidement ; une heure après la première prise il a retiré 5 cc. L'excrétion urinaire est intermittente. De temps à autre l'opercule se soulève et le liquide est évacué. Cette excrétion paraît indispensable, car quelques jours (8 à 16) après obturation des opercules les animaux meurent.

La fonction excrétrice des glandes antennaires est encore démontrée par la méthode des injections vitales de substances colorantes. Suivant le degré d'affinité des diverses cellules de l'appareil excréteur pour les matières colorantes, CRÉNOT a divisé celles-ci en deux groupes. Le premier groupe se fixe de préférence sur les cellules du labyrinthe et de la vessie, il comprend les colorants à caractère acide du groupe de l'indigo (indigo-carmin, fuchsine acide, rouge d'alizarine S, vésuvine, safranine, etc.). Le deuxième groupe, à caractère basique, est celui du carmin (carmin d'ammoniaque, vert de méthyle, tournesol, hémoglobine), substances qui se fixent sur les cellules du saccule.

Récemment (1925) E. FISCHER, utilisant diverses techniques d'histo-physiologie, a observé que tous les tissus constituant l'appareil excréteur (vessie, labyrinthe et saccule) participent à l'excrétion. Les cellules du labyrinthe, qui par leur aspect se rapprochent notablement des cellules à bâtonnets du rein des

Vertébrés, sont le siège d'une double excrétion, expulsion de granulations figurées, expulsion de liquide. Les cellules de la vessie présentent chez beaucoup d'espèces un mode d'excrétion assez spécial, par expulsion d'inclusions liquides volumineuses dont chacune est contenue dans une membrane et renferme un corps central.

Ainsi, il n'existe actuellement aucun doute sur le rôle excréteur des glandes antennaires. En ce qui concerne la nature chimique des produits excrétés la question est plus obscure ; on ne possède que quelques données, dont plusieurs sont contradictoires.

On a cherché à caractériser les déchets soit dans le liquide excrété, soit dans les glandes elles-mêmes. La première méthode est de beaucoup la meilleure. Elle a été utilisée par MARCHAL, qui a fait sur le liquide urinaire de la *Maja* des observations intéressantes, dont voici le résumé :

Le liquide, clair, citrin ou incolore, ne donne pas de coagulum par la chaleur ou les acides ; il ne contient ni urée, ni acide urique. Mis en présence d'hypobromite quelques bulles d'azote se dégagent. Il contient des traces d'ammoniaque ou de bases organiques (légère coloration avec le réactif de Nessler). Le corps principal de l'excrétion azotée est un corps non identifié exactement, soluble dans l'eau, à réaction acide, précipitant à 100° en présence d'acétate de cuivre, comme les corps xanthiques et les acides carbo-pyridiques, auquel MARCHAL a donné le nom d'*acide carcinurique*. En outre, le liquide dont la composition générale est voisine de celle de l'eau de mer, contient une base du type des alcaloïdes, précipitable par le réactif de BOUCHARDAT et un corps, qui sous l'action de la potasse, donne naissance à de la triméthylamine ou à des bases volatiles de ce groupe.

La recherche des déchets azotés dans l'eau où avaient vécu des Crustacés n'a été faite à ma connaissance que par FOSSE, qui a signalé la présence d'urée dans l'eau de source où avaient séjourné des Ecrevisses.

On a cherché à caractériser les produits d'excrétion dans les glandes antennaires. La présence de guanine a été admise par GORUP-BESANEZ, celle d'urée et d'acide urique par SZIGETHY et

par GRIFFITHS. Dans l'extrait de glandes vertes d'Ecrevisses à jeun ou alimentées avec de la viande, MARCHAL n'a pas trouvé trace d'acide urique.

La réaction microchimique de COURMONT et ANDRÉ permet, comme on sait, de mettre en évidence les corps puriques. Elle a été récemment utilisée par E. FISCHER. L'essai tenté un grand nombre de fois sur le rein de divers Décapodes ne lui a donné aucun résultat, ni pour le saccule, ni d'ailleurs pour aucune autre partie du rein. Il en fut de même pour une Ecrevisse à laquelle il avait injecté de fortes doses d'urate de soude.

On ne sait encore rien sur la signification et le rôle des grains verts, qui n'appartiennent pas, d'après FISCHER, à la catégorie des pigments chlorophylliens ou des pigments biliaires.

L'hépto-pancréas des Crustacés Décapodes est considéré comme un organe d'excrétion au même titre que les glandes antennaires. Certaines substances fixées ou formées dans le foie seraient éliminées avec les excréments. Cette fonction excrétrice a été reconnue par L. CUÉNOT, à l'aide de la méthode des injections physiologiques et par E. FISCHER, qui a utilisé la réaction de COURMONT et ANDRÉ.

CUÉNOT a injecté dans le cœlome de l'Ecrevisse un peu de bleu de méthylène BB et obtenu une magnifique coloration élective de certaines cellules du foie, les cellules à ferment. Au bout de quelques jours le bleu passe dans le liquide stomacal et est éliminé avec les excréments. CUÉNOT admet que le pigment contenu dans les mêmes cellules est rejeté au dehors et qu'il donne aux excréments leur coloration brun orangé ou vert sale. En outre, il a observé que l'eau injectée dans la cavité générale est éliminée par le foie, dont le rôle régulateur de la composition du sang intervient dès que la fonction régulatrice des reins est insuffisante.

D'après E. FISCHER, l'hépto-pancréas des Crustacés excrète des substances puriques. Les cellules de l'hépto-pancréas d'un grand nombre de Crustacés (*Maja squinado*, *Portunus puber*, *Cancer pagurus*, *Carcinus mœnas*, *Palinurus vulgaris*) contiennent des grains colorables par la réaction de COURMONT et ANDRÉ, grains que l'on retrouve dans la lumière de l'intestin

chitineux. Fait curieux, pour l'Ecrevisse et le Homard la même réaction s'est montrée négative.

La recherche chimique des déchets azotés contenus dans l'hépatopancréas peut donner d'utiles indications sur la fonction excrétrice de l'organe ainsi que sur l'origine des déchets. Quelques recherches ont été faites dans cette direction.

L. SANZO a dosé comparativement l'urée dans le muscle et l'hépatopancréas de la Langouste. L'hépatopancréas contient une plus grande quantité d'urée (19 à 24 mgr. pour 100 gr. d'organe frais) que le muscle (5 à 9 mgr.). D'après SULIMA l'hépatopancréas de la *Maja* contient beaucoup d'acide urique (170 à 360 mgr pour 100 gr. d'organe frais). L'élimination de ce déchet s'effectuerait par l'intestin, mais on ne le retrouve pas dans les excréments car il serait décomposé par putréfaction. Il eut été intéressant de savoir si l'hépatopancréas de tous les Décapodes contient beaucoup d'acide urique, comme celui de la *Maja*, mais SULIMA n'a pas donné de renseignements à ce sujet. J'ai signalé enfin la présence d'ammoniaque dans l'organe digestif (16,2 mgr. pour 100 gr.) ainsi que sa forte teneur en acides aminés (420 mgr.).

D'assez nombreuses recherches ont eu pour but d'identifier les déchets azotés dans le sang des Crustacés. Elles sont importantes, car on doit certainement trouver dans le liquide du milieu intérieur les principaux corps formés au cours des échanges et destinés à l'excrétion.

La présence d'urée paraît actuellement bien démontrée. JOLYET et RÉGNARD ont dosé l'urée avec la pompe à mercure par le procédé de GRÉHANT et ont trouvé pour 100 ccm., 1,8 à 2,3 mgr. d'azote uréique dans le sang du Crabe tourteau. D'après L. SANZO, qui a utilisé la méthode à l'hypobromite de soude, la teneur en azote uréique du sang (pour 100 ccm.) est en moyenne de 3,95 mgr. pour la Langouste, de 1,78 pour l'Araignée et de 1,71 pour *Portunus corrugatus*. A l'aide de la même méthode, j'ai dosé chez la *Maja* l'azote uréique, en même temps que l'azote non protéique, l'azote ammoniacal et l'azote aminé.

Voici les résultats déjà publiés, exprimés en mgr. pour 100 ccm. de sang :

N non protéique	N (N H ²)	N (N H ³)	N (urée)
	%	%	%
14	5,7 40.7	2,1 15.0	3,6 25,7
12	3,0 25.0	2,4 20.0	1,7 14.1
20	5,3 26.3	2,7 13.5	4,2 21.0

Pour 100 d'azote non protéique, l'azote aminé se trouve dans une proportion allant de 25.0 à 40.0, l'azote ammoniacal de 13.5 à 20.0, et l'azote uréique de 14.1 à 25.7.

MYERS a étudié le sang d'un Crabe (*Cancer productus*) et a donné les chiffres suivants :

N non protéique	N (N H ³)	N (urée)	N acide urique
18.0	1.05 (5.8 %)	5.15 (28.6 %)	1.56 (8.7 %)

Il insiste sur la teneur élevée du sang de Crabe en acide urique. Elle est supérieure à celle de l'homme et se rapproche de celle des Oiseaux. L'urée a été dosée par l'uréase ; l'acide urique à l'aide du réactif de FOLIN et DENIS.

MORGULIS a fait d'intéressantes observations sur les variations de l'acide urique dans le sang de quelques Crustacés.

Chez le Homard il a constaté de faibles variations de l'azote non protéique (12,5 à 13,3 mgr. pour 100 ccm.) et de l'azote de l'acide urique (0.66 à 0.80 mgr.). L'azote non protéique est beaucoup plus variable chez l'Araignée (13 à 33 mgr.) ainsi que l'azote de l'acide urique (0.33 à 0.76 mgr.). Pour certaines espèces (Blue-crabs) l'acide urique n'existe dans le sang que chez les animaux fraîchement capturés en bon état de nutrition. Mettant à profit le fait qu'il est facile chez *Palinurus argus* de faire plusieurs prises de sang, il a montré que chez les animaux

à jeun l'acide urique disparaît du sang assez rapidement. Voici ses résultats en mgr. pour 100 ccm. :

		N non protéique	N urée	N (a urique)
Animaux fraîchement capturés	Maximum	29.0	11.0 (37.9%)	0.66 (2.2%)
	Minimum	15.0	6.0 (40.0%)	0.10 (0.6%)
Animal à jeun	0 h.....	16.0	—	0.23 (1.4%)
	24 h.....	14.0	—	0.10 (0.6%)
	44 h.....	10.0	—	0.00 (0.0%)

Le dosage de l'azote non protéique du sang, après injection dans les muscles du thorax de solutions dans l'eau de mer de sulfate d'ammoniaque et d'urée, a permis, d'autre part, à MORGULIS de constater que ces substances passent rapidement dans le sang et qu'elles ne tardent pas à être éliminées.

Le sulfate d'ammoniaque est plus toxique que l'urée ; il a disparu du sang deux heures environ après l'injection. L'urée est évacuée plus lentement ; l'azote non protéique ne revient à son taux initial qu'environ 12 à 14 heures après l'injection. Fait curieux, la teneur en acide urique augmente dans ces conditions. La réaction bleue, nulle ou presque nulle chez les animaux en captivité, apparaît très intense 2 à 3 heures après l'injection d'urée.

En résumé, il ressort des recherches qui viennent d'être exposées qu'il se forme certainement au cours des échanges de l'ammoniaque, de l'urée et de l'acide urique. Toutefois, par suite du manque de documents sur l'importance relative des déchets évacués dans le milieu extérieur, ces données, malgré leur intérêt, ne permettent pas de fixer la formule générale de l'excrétion azotée.

Il ne faut pas d'ailleurs se dissimuler la complexité du problème. Les recherches récentes de L. LOEB et O. BODANSKY ont en effet montré qu'il n'est pas prudent de conclure d'un Crustacé à un autre Crustacé. Ainsi, le sang et les tissus de la *Limule* sont riches en uréase, alors que le sang et les tissus des autres Crustacés étudiés (*Homard*, *Crabes*, *Araignée*) n'en contiennent pas.

1. — Maja squinado

A) LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LE LIQUIDE DE LA VESSIE ET DANS LE LIQUIDE CAVITAIRE

J'ai déjà fait connaître les recherches de MARCHAL sur le liquide urinaire ainsi que ses conclusions. La récolte du liquide a été faite d'après les indications de cet auteur et j'ai pris soin d'éviter son mélange avec le sang. Comme dans ce liquide on ne trouve en suspension qu'une très petite quantité de matières, il ne m'a pas été possible d'en faire l'étude. Dans le tableau I j'ai réuni les résultats de mes recherches.

TABLEAU I.

Maja — Liquide de la vessie	Mgr N dans 100 ccm				Rapport o/o			
	1	2	3	4	1	2	3	4
N protéique.	8,10	21,00	—	31,00	—	—	—	—
N non protéi- que	5,40	10,00	8,40	7,50	—	—	—	—
N (N H ₃) . . .	0,22	0,93	0,40	0,90	4,0	9,3	4,7	12,0
N (N H ₂) . . .	1,02	1,64	1,50	2,10	18,8	16,4	17,8	27,9
N urée	0,33	0,40	0,71	0,16	6,1	4,0	8,5	2,1
N purique . .	—	0,43	0,62	0,50	—	4,5	7,4	6,6
N A urique . .	—	0,20	0,40	0,10	—	2,0	4,7	1,3
N dosé	1,57	3,42	3,23	3,66	28,9	34,2	38,4	48,6

La présence constante dans le liquide de la vessie d'une petite quantité d'albumine laisse supposer l'existence chez la

Maja d'une légère albuminurie physiologique, analogue à celle qui a été signalée chez le Poulpe. Le liquide ne renferme qu'une très petite quantité d'azote non protéique, 5 à 10 mgr. environ pour 100 ccm. La quantité d'azote non protéique qui a été identifiée par notre méthode d'analyse, par rapport à l'azote non protéique total, est seulement de 40 % environ. Par ordre d'importance, on trouve de l'azote aminé (15 à 30 %), de l'azote ammoniacal (4 à 12 %), de l'azote uréique (2 à 9 %) et de l'azote purique dont une partie seulement sous forme d'acide urique.

Il eut été intéressant de rechercher la nature des corps azotés non identifiés par notre méthode d'analyse, mais je n'ai fait aucune recherche à ce sujet. La faible quantité d'azote non protéique rend d'ailleurs cette étude assez difficile.

La répartition des matériaux azotés contenus dans le sang fait l'objet du tableau II. Le sang N° 2 a été recueilli chez un animal en digestion qui venait d'être capturé, les sangs 1 et 3 chez des animaux à jeun et le sang N° 4, est celui d'une *Maja*, au moment de la mue.

On retrouve dans le sang les mêmes déchets azotés que dans le liquide de la vessie. Ces déchets ne se forment donc pas dans les glandes antennaires, qui ont seulement vis-à-vis de ces corps un rôle excréteur.

Fait curieux, le rapport % de ces déchets à l'azote non protéique total, étudié comparativement pour le liquide cavitaire et pour le liquide de la vessie, est assez voisin. Les glandes antennaires ne possèdent pas une puissance de sélection élective comparable à celle du rein des Vertébrés. Elles semblent fonctionner comme un appareil de dialyse bien plus que comme un véritable rein. C'est ainsi que le liquide de la vessie contient comme le sang, plus d'azote aminé que d'azote ammoniacal, et qu'en outre, pour un même volume, la quantité d'azote non protéique du liquide de la vessie est égale et souvent inférieure à la quantité contenue dans le liquide cavitaire. Il est possible dans ces conditions que la petite quantité d'albumine du liquide urinaire ait pour origine la filtration d'un peu d'albumine du plasma à travers l'appareil excréteur.

Il existe des variations assez fortes du taux de l'azote non protéique dans le sang de la *Maja*. Elles paraissent liées à l'état de nutrition. Pendant toute la période de la mue l'animal inerte ne s'alimente pas. L'azote non protéique total s'abaisse alors à 4 ou 5 mgr. pour 100 ccm. Chez l'animal en digestion, la quantité d'azote non protéique est plus forte (15 à 25 mgr.). Des variations du même ordre ont déjà été signalées par MORGÜLIS, dans le sang de *Palinurus argus*.

TABLEAU II.

Maja — Sang	Mgr N dans 100 ccm.				Rapport o/o			
	1	2	3	4	1	2	3	4
N protéique.	813,00	275,00	—	109,00	—	—	—	—
N non protéique	11,70	24,60	14,00	4,20	—	—	—	—
N (N H ₃) . . .	4,59	2,40	1,05	0,45	13,5	9,7	7,5	10,7
N (N H ₂) . . .	3,20	8,40	3,90	1,60	27,3	34,1	27,8	38,0
N urée	0,56	1,45	0,64	0,39	4,8	5,9	4,5	9,3
N purique . .	0,42	—	0,48	0,27	3,6	—	3,4	6,4
N A uriqué .	0,10	—	0,32	0,22	0,8	—	2,3	3,2
N dosé	5,77	12,25	6,07	2,71	49,2	49,7	43,2	64,4

Le taux de l'azote protéique du sang de la *Maja* subit des variations très considérables. Les chiffres les plus bas (80 à 100 mgr. p. 100 ccm.) ont été observés au moment de la mue, c'est-à-dire pendant la longue période d'inanition que subit l'animal. VIRZOU a déjà signalé que pendant la mue le sang absorbe une grande quantité d'eau, devient plus fluide et moins coagulable.

B) LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS L'HEPATOPANCREAS

J'ai étudié comparativement la répartition de l'azote non protéique dans l'organe frais et dans l'organe soumis à l'autodigestion, pendant 24 heures, à 38°, en présence de chloroforme. Les résultats obtenus ont été notés dans le tableau III.

TABLEAU III.

Maja Mgr pour 100 gr.	Hepato-pancréas n° 1			Hepato-pancréas n° 2		
	Organe frais	Après autolyse	Plus value	Organe frais	Après autolyse	Plus-value
N protéique	—	—	—	1140,0	276,0	—
N non protéique :	1235,0	1765,0	530,0	1116,0	1980,0	864,0
N (N H3)	26,0	62,0	36,0	34,0	93,0	59,0
N (N H2)	476,0	750,0	374,0	436,0	1025,0	589,0
N urée	21,0	12,5	—	25,0	21,2	—
N purique	44,0	100,0	56,0	76,0	201,0	125,0
N A urique	32,0	38,0	6,0	46,0	75,0	29,0
Glycogène	540,0	—	—	—	—	—

L'organe frais contient beaucoup d'acide urique et une quantité importante d'ammoniaque et d'urée. Il est en outre très riche en acides aminés libres.

Au cours de l'autodigestion une quantité notable d'albumine est dégradée avec libération d'acides aminés. Les nucléines sont elles aussi décomposées ainsi qu'en témoigne l'augmentation de l'azote purique libre. De l'ammoniaque prend naissance et il se forme plus ou moins d'acide urique. L'urée au contraire tend à diminuer.

La grandeur des mutations chimiques qui s'effectuent pendant l'autolyse, ainsi que la teneur élevée de l'organe frais en déchets azotés, laissent supposer que ces déchets se forment en grande partie dans l'hépatopancréas. En particulier l'ammoniaque peut provenir de la désamination des acides aminés si abondants dans l'organe frais et autolysé.

SULIMA, qui a découvert la teneur élevée de l'organe frais en acide urique tend à admettre que ce corps se forme par synthèse comme dans le foie des Oiseaux et des Reptiles. Voici les arguments qu'il a avancés à l'appui de cette opinion.

La quantité d'acide urique contenue dans le macéré d'organe augmente nettement lorsqu'il est soumis à l'autolyse. Il en est de même lorsqu'on ajoute au macéré, soumis trois heures à l'autodigestion, du malonate de soude et de l'urée, du glycolle. Lorsque l'autodigestion est faite en présence de xanthine, dans les mêmes conditions, la teneur en acide urique n'augmente pas.

Que l'acide urique se forme par synthèse dans l'hépatopancréas de la *Maja* comme dans le foie des Reptiles et des Oiseaux, cela est probable, mais là se borne l'analogie entre le métabolisme de la *Maja* et celui des Oiseaux. Il ne semble pas, en effet, que chez la *Maja* et d'une façon plus générale chez les Décapodes, l'acide urique puisse être considéré au point de vue quantitatif comme le déchet principal.

Nous avons déjà vu que dans le liquide de la vessie et dans le sang de l'Araignée l'acide urique ne figure que pour une part bien inférieure à celle de l'ammoniaque et de l'urée. Il est vrai que SULIMA a admis que l'acide urique est évacué par la voie digestive. Dans l'extrait désalbuminé du suc digestif je n'en ai trouvé que des traces. Peut-être disparaît-il rapidement sous l'action de la putréfaction, mais des recherches sont nécessaires pour préciser ce point.

Quoi qu'il en soit, nous verrons plus loin que la présence en quantité abondante d'acide urique dans l'hépatopancréas des Crustacés décapodes n'est pas la règle. C'est ainsi par exemple que l'hépatopancréas d'*Astacus*, de *Portunus puber*, de *Cancer Pagurus* ne contient que quelques milligrammes d'acide urique

alors qu'il est presque aussi riche en ammoniacque et en urée que celui de la *Maja*.

Nous verrons aussi que l'acide urique ne figure que pour une faible part parmi les déchets azotés présents dans l'eau de mer où ont vécu des Crabes et des Ecrevisses. Ces faits ne s'accordent pas avec l'idée que l'excrétion des Crustacés est analogue à celle des Oiseaux.

II. — *Astacus fluviatilis*

A) LES DECHETS AZOTÉS ÉVACUÉS DANS LE MILIEU EXTERIEUR ET LES DECHETS CONTENUS DANS LE SANG

Dans l'eau de source où avaient vécu des Ecrevisses, FOSSE a identifié la présence d'urée à l'aide du xanthhydrol, mais il n'a pas établi l'importance relative de l'excrétion uréique. A ma connaissance il n'a pas été fait d'autres recherches dans cette direction.

Pour la récolte globale des déchets azotés évacués dans le milieu extérieur, j'ai utilisé le même procédé que FOSSE. A condition de changer l'eau assez souvent (toutes les 12 heures environ), d'opérer à une température inférieure à 15°, il est possible de maintenir en vie les animaux et de recueillir dans de bonnes conditions les produits excrétés. J'ai étudié l'excrétion chez l'animal à jeun et chez l'animal en digestion.

La récolte des déchets chez les animaux en digestion a été faite de la façon suivante. Pendant la nuit les animaux placés dans un bassin à eau courante sont alimentés avec de la viande. Ils sont placés pendant le jour dans un cristalliseur contenant de l'eau de source, qui est recueillie le soir.

En opérant ainsi pendant plusieurs jours, il est possible avec quelques Ecrevisses de récolter une quantité de déchets suffisante pour l'analyse. On trouve en outre, en suspension dans le liquide, des déchets insolubles dont je n'ai pu déterminer la nature chimique. J'ai constaté toutefois qu'ils renferment de l'azote purique et des traces d'acide urique. Dans le tableau I se trouvent les résultats relatifs à la répartition de l'azote dans le sang et dans l'eau où ont vécu les animaux. Pour le calcul il a été tenu compte, bien entendu, de la très petite quantité de corps azotés que l'on trouve dans l'eau de source.

L'azote volatil titrable au formol représente le déchet le plus important de l'Ecrevisse ; il forme en effet 50 à 65 p. 100 de l'azote total excrété. L'excrétion uréique est plus faible (10 à 15 %) ainsi que l'excrétion d'azote aminé (6 à 13 %). La masse principale des produits de la désassimilation azotée de l'Ecrevisse se trouve dans le groupe azote formol et azote urée.

TABLEAU IV

Astacus —	Mgr N pour 100 ccm.				Rapport o/o			
	Liq. n° 1 (jeun)	Liq. n° 2 (digestion)	Liq. n° 3 (digestion)	Sang (jeun)	Liq. n° 1 (jeun)	Liq. n° 2 (digestion)	Liq. n° 3 (digestion)	Sang (jeun)
N non protéique	3,40	9,30	21,60	11,0	—	—	—	—
N (N H ₃)	2,10	6,00	11,40	2,2	61,7	64,5	52,7	20,0
N (N H ₂)	0,20	4,10	2,70	2,2	5,9	11,8	12,5	20,0
N urée	0,40	4,10	2,20	3,6	11,7	11,8	10,2	32,7
N purique	0,22	0,33	0,70	1,2	6,4	3,7	3,2	10,8
N A urique	0,04	0,08	0,07	0,4	1,2	0,8	0,3	3,6
N Ph W (filtrat)	—	2,60	6,60	5,4	—	28,0	30,5	49,0
N Ph W (précipité).	—	6,70	15,00	5,6	—	72,0	69,5	51,0
N dosé	2,92	8,55	17,00	9,2	85,7	91,8	78,6	83,5

L'excrétion de corps puriques est peu importante ; elle ne dépasse pas 5 % de l'azote total et s'effectue en partie seulement sous forme d'acide urique (1 %). Toutefois, étant donné la présence de déchets de nature purique dans les excréta insolubles, il n'est pas possible de fixer exactement la valeur de cette excrétion. .

Chez les animaux à jeun et en digestion, la répartition des déchets est sensiblement la même. Il semble toutefois que chez les animaux alimentés l'excrétion d'azote aminé soit relativement plus forte.

TABLEAU V

Astacus — Mgr pour 100 gr.	Hépto-pancréas			Muscle	Œufs
	Organe frais	Après autolyse	Plus- value		
N protéique	1220,0	470,0	—	2168,0	—
N non protéique..	750,0	1500,0	750,0	538,0	990,0
N (N H ₃).....	48,0	160,0	112,0	21,0	15,0
N (N H ₂).....	260,0	712,0	452,0	210,0	140,0
N urée.....	18,0	16,5	—	12,0	12,0
N purique	23,0	38,0	35,0	34,0	71,0
N A urique	3,2	1,4	—	Traces	Traces
Glycogène.....	418,0	—	—	40,0	—

Le sang renferme les mêmes déchets que les liquides contenant les produits d'excrétion, mais en proportion différente. On y trouve par exemple plus d'urée que d'ammoniaque, ce qui laisse supposer que l'excrétion ammoniacale est plus rapide que celle de l'urée.

B) LES DÉCHETS AZOTÉS CONTENUS DANS LES ORGANES

Nos recherches, dont les résultats sont consignés dans le tableau V, ont porté sur l'hépto-pancréas frais et autolysé, sur le muscle et sur les œufs. J'ai étudié en outre la répartition de l'azote non protéique dans l'extrait des glandes vertes.

L'hépatopancréas contient en plus grande quantité que les autres organes de l'ammoniaque, de l'urée et de l'acide urique. Après autolyse on observe, comme pour la *Maja*, une profonde dégradation des albumines et des nucléines, qui se traduit par la libération d'une forte quantité d'acides aminés et de corps puriques. Des bases azotées volatiles prennent naissance en même temps, mais je n'ai pas constaté de mise en liberté d'urée ou d'acide urique.

Dans l'ensemble ces faits laissent supposer que les déchets azotés se forment activement dans l'hépatopancréas au cours des mutations chimiques dont cet organe est le siège. A ce point de vue il n'existe pas de différence marquée entre les échanges de la *Maja* et ceux de l'Ecrevisse.

La seule différence porte sur la teneur de l'organe en acide urique. L'hépatopancréas de la *Maja* en contient beaucoup, celui de l'Ecrevisse en contient très peu.

L'extrait des glandes vertes contient les mêmes déchets que l'extrait de l'hépatopancréas mais dans une proportion différente. En particulier on y trouve relativement plus d'azote purique et d'acide urique.

	Hépatopancréas (Rapport %)	Glandes Vertes (Rapport %)
N non protéique.....	100.0	100.0
N (N H ³) + N (urée)....	8.6	11.0
N (N H ²)	34.2	30.0
N purique	3.0	17.0
N a. urique.....	0.4	2.0

III. — *Carcinus mœnas*

L'étude des déchets azotés présents dans l'eau de mer dans laquelle ont vécu des Crabes n'a pas encore été faite à ma connaissance. J'ai utilisé pour la récolte des déchets la même technique que pour l'Ecrevisse. En outre, comme les Crabes peuvent vivre facilement à l'air, j'ai étudié comparativement le liquide rejeté par les animaux maintenus pendant quelques heures à sec dans un cristalliseur (Liquide 3). Les données ana-

lytiques ont été réunies dans le tableau suivant, qui contient en outre, comme élément de comparaison, la répartition de l'azote non protéique dans le sang.

TABLEAU VI

Carcinus mœnas	Mgr N dans 100 ccm.				Rapport o/o			
	Liquide n° 1	Liquide n° 2	Liquide n° 3	Sang	Liquide n° 1	Liquide n° 2	Liquide n° 3	Sang
N non protéique	2,37	15,40	4,70	37,50	—	—	—	—
N (N H ₃)	1,62	11,00	3,00	2,10	68,3	71,4	63,8	5,6
N (N H ₂)	0,09	1,20	0,70	12,00	3,7	7,7	14,9	32,3
N urée	0,10	0,33	0,16	2,70	4,2	2,2	2,3	7,2
N purique	0,06	0,60	—	—	2,3	3,9	—	—
N A urique	0,03	0,10	0,02	0,40	1,2	0,6	0,4	1,0
N Ph W (filtrat)	1,17	8,20	3,60	30,50	49,0	53,3	76,3	81,3
N Ph W (précipité)	1,20	7,20	1,10	7,00	51,0	46,7	23,7	18,7
N dosé	1,87	13,15	3,86	16,80	78,7	85,2	81,6	44,1

De l'examen de ce tableau, il est possible de conclure que l'excrétion azotée du Crabe ne diffère pas sensiblement de celle de l'Ecrevisse. En effet, si l'on totalise les corps du groupe formol et du groupe urée on retrouve environ les 3/4 de l'azote soluble excrété. L'azote volatil titrable au formol représente le déchet principal (55 à 70 %). L'excrétion d'urée est très faible (2,5 à 5%), plus faible, semble-t-il, que celle de l'Ecrevisse. L'excrétion d'azote aminé s'est montrée variable (4 à 15 %). Enfin

l'azote purique excrété à l'état soluble n'est qu'en partie sous forme d'acide urique et ne figure que pour une faible part dans l'excrétion totale.

Les mêmes déchets se retrouvent dans le sang, mais leur proportion est différente. L'azote aminé prédomine (32 %); l'azote uréique est en quantité plus forte (7.2 %) que l'azote ammoniacal (5.6 %). Seul le rapport p. 100 de l'azote de l'acide urique (1 %) est sensiblement le même dans le sang et dans les liquides contenant les déchets.

IV. — Cancer pagurus

TABLEAU VII

Cancer pagurus	Liquide évacué		Sang		Hépatopancréas	Muscle	Organes génitaux
	Mgr p. 100 ccm.	Rap. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rap. o/o	Mgr p. 100 gr.	Mgr p. 100 gr.	Mgr p. 100 gr.
N protéique ...	Traces	—	907,00	—	1620,0	2240,0	—
N non protéique	0,70	—	15,00	—	630,0	1002,0	840,0
N (N H ₃)	0,30	42,9	0,80	5,3	28,0	16,0	27,0
N (N H ₂)	0,14	20,0	6,70	44,6	236,0	350,0	280,0
N urée	0,09	12,8	0,90	6,0	13,6	—	15,0
N purique !	0,07	10,0	0,30	2,0	19,0	25,0	24,0
N A urique ...	0,02	2,8	0,08	0,5	2,8	0,4	8,0
N dosé	0,60	85,7	8,70	57,9	—	—	—

L'étude systématique de l'excrétion azotée du Crabe tourteau n'a pas été faite. Chez de gros animaux provenant des bassins, à jeun depuis plusieurs jours, j'ai étudié seulement la répartition de l'azote non protéique dans le sang et quelques organes.

ainsi que dans le liquide qui est rejeté en quantité assez abondante lorsque les animaux, bien essuyés aussitôt après leur sortie du bassin, sont placés à sec dans un grand cristalliseur. Les résultats obtenus ont été notés dans le tableau VII.

De l'examen de ce tableau, il ressort que l'excrétion azotée du Tourteau ne diffère pas beaucoup de celle de *Carcinus maenas*. Le liquide récolté dans les conditions précédemment décrites ne contient qu'une quantité très faible d'azote non protéique mais on y retrouve les déchets déjà signalés dans l'eau de mer où avaient vécu des Crabes. L'hépatopancréas contenait moins d'acide urique que la masse génitale qui était fortement colorée en rouge. Il est possible que de l'acide urique se forme dans les organes génitaux.

V. — *Palinurus vulgaris*

J'ai étudié seulement la répartition de l'azote non protéique dans le sérum du sang de la Langouste. L'animal provenant du marché a été saigné par une petite incision faite à la nageoire caudale au niveau de l'articulation. Le sang coagule rapidement. Le caillot divisé en très petits fragments laisse exsuder en quelques heures un sérum bleu gris dont voici la teneur en corps azotés :

	Mgr. N. p. 100 ccm.	Rapport %
N non protéique.....	26,5	—
N (N H ³)	2,5	9.4
N (N H ²)	8,0	30.2
N (urée).....	5,5	11.3
N purique	2,1	7.9
N. a. urique.....	0,3	1.1

Le sang de la Langouste contient les mêmes déchets azotés que le sang des autres Crustacés, mais sa teneur en urée semble relativement plus forte.

*
**

De l'ensemble des recherches qui viennent d'être exposées, il se dégage quelques conclusions :

1°) Les bases azotées volatiles titrables au formol (ammonia-

quë et amines) jouent un rôle important dans l'excrétion des Crustacés. Chez le Crabe et l'Ecrevisse, 50 à 70 % de l'azote soluble sont excrétés sous cette forme. Présentes normalement dans le sang et dans les organes, elles se forment en quantité notable au cours de l'autodigestion de l'hépatopancréas.

2°) L'azote aminé est excrété d'une façon constante, en quantité relativement faible et assez variable (5 à 20 %). L'excrétion semble plus forte chez les animaux en digestion que chez les animaux à jeun.

3°) L'urée est un déchet normal du métabolisme des Crustacés, que l'on trouve toujours dans le sang, dans l'extrait des organes et dans les liquides contenant les excréta. Sa part est relativement faible (5 à 20 % de l'azote excrété). L'urée ne se forme pas au cours de l'autodigestion de l'hépatopancréas de la Maja et de l'Ecrevisse.

4°) Il est difficile d'évaluer l'importance quantitative de l'excrétion purique, les corps puriques étant évacués sous forme soluble et aussi sous forme insoluble. Dans les liquides contenant seulement les déchets solubles, le rapport p. 100 de l'azote purique à l'azote total n'a pas dépassé 5 %. Au cours de l'autodigestion de l'hépatopancréas des corps puriques sont mis en liberté en quantité notable.

5°) L'excrétion d'acide urique est générale chez les Crustacés. Elle est très faible quantitativement et elle n'a pas l'importance que tendent à lui accorder quelques auteurs (SULIMA, MYERS). Dans les liquides contenant les excréta solubles, ainsi que dans le sang, le rapport de l'azote appartenant à l'acide urique à l'azote non protéique total atteint rarement 2 %. Ainsi que l'a déjà signalé SULIMA l'hépatopancréas de la *Maja* contient beaucoup d'acide urique, mais il n'en est de même pour l'hépatopancréas du Crabe tourteau, de l'Ecrevisse, dont la teneur en acide urique est très faible. Pour toutes ces raisons on ne peut admettre que le métabolisme des Crustacés est analogue à celui des Oiseaux et des Reptiles. Il se rapproche beaucoup plus de celui des Vers et des Echinodermes.

MOLLUSQUES

Il n'est pas possible actuellement de dégager des travaux assez nombreux qui ont été faits, une formule générale de l'excrétion azotée de ces êtres, si tant est que cette formule existe. D'après l'opinion la plus en faveur, l'azote purique représenterait le déchet le plus important des échanges, mais ce n'est encore qu'une hypothèse, à l'appui de laquelle il existe seulement quelques observations.

A diverses époques on a essayé de dégager une conclusion des recherches. Voici l'opinion de quelques auteurs, ceux qui se sont plus particulièrement préoccupés de la question.

En 1889 MARCHAL s'est exprimé ainsi :

a) L'acide urique fait presque constamment défaut dans l'organe de Bojanus des Lamellibranches et y est remplacé par l'urée, la taurine, la créatine (LETELLIER).

b) L'urée et la taurine se rencontrant également dans le foie et dans l'organe de Bojanus des Lamellibranches, ces deux organes peuvent être considérés l'un et l'autre comme participant à la même fonction.

c) Chez les Gastéropodes, la présence d'acide urique est un fait général chez les Pulmonés (JACOBSON, etc.); l'organe de Bojanus d'un seul *Helix* en renferme plus de 7 milligrammes. Les données actuelles ne permettent pas de dire si l'acide urique existe d'une façon générale chez les autres Gastéropodes.

d) L'urée n'a pas été rencontrée dans l'organe de Bojanus chez les Gastéropodes, qui ont été examinés en vue de cette recherche (LETELLIER, Observ. pers.), mais on y rencontre, en outre, de l'acide urique, une substance acide spéciale et probablement de la leucine ; le foie de certains Gastéropodes renferme de l'urée (KRUKENBERG).

e) Chez les Céphalopodes, la Seiche est le seul type chez lequel l'acide urique ait été trouvé d'une façon certaine (HARLESS, FAULBERT, etc.). Il existe dans le rein de cet animal à l'état d'acide urique libre avec traces d'urates de chaux.

f) Un corps xanthique, sans doute la guanine, remplace l'acide urique chez le Poulpe (FRÉDERICQ).

g) Chez les Mollusques l'excrétion de l'acide urique se fait

à l'état solide... ; il se peut aussi que dans certains cas elle se fasse exclusivement à l'état liquide et ait échappé à des recherches superficielles. »

Nous avons déjà fait connaître (chapitre I) l'opinion de V. FÜRTH (1903), qui doute fort de la présence de l'urée chez les Lamellibranches.

STROHL (1913), qui a fait un exposé détaillé de la question dans sa revue sur l'excrétion des Mollusques, considère comme définitivement démontrée la présence d'acide urique dans les concrétions des Escargots et comme probable la présence d'urée chez les Lamellibranches. Il admet, avec BURIAN et SULIMA, que l'acide urique contenu dans le sédiment de l'urine des Céphalopodes n'est pas un déchet provenant de ces êtres, mais qu'il est vraisemblablement produit par les Dicyémides, parasites que l'on trouve en abondance dans les corps fungiformes. Il estime que les seuls déchets bien caractérisés chez les Céphalopodes sont l'ammoniaque et l'hypoxanthine (V. FÜRTH) et que l'excrétion d'urée n'est pas démontrée.

Il n'est pas douteux que l'étude chimique de l'excrétion azotée des Mollusques mérite d'être reprise. Elle le mérite d'autant plus, que, d'une part, les processus histo-physiologiques de l'excrétion sont actuellement bien connus, et que, d'autre part, les trois grandes classes de ce groupe présentent au point de vue biologique des caractères variés.

C'est ainsi que les Lamellibranches, dont l'activité est comme on sait très réduite, se nourrissent sur place d'aliments en suspension dans l'eau de mer ou retirés de la vase, alors que les Céphalopodes, animaux très actifs, sont carnivores et très voraces. Chez les Gastéropodes, enfin, il est possible d'étudier comparativement l'excrétion azotée chez des animaux de la même classe, dont les uns sont marins et les autres adaptés à vie aérienne.

* * *

Lamellibranches

L'étude anatomique et histo-physiologique de l'excrétion chez les Lamellibranches a été l'objet de nombreux et intéressants travaux, dont on trouvera un bon exposé dans la revue de

STROHL, ainsi que dans la thèse de TURCHINI sur l'histologie comparée de la cellule rénale.

Les reins, appelés souvent organes de Bojanus, représentent l'émonctoire le plus important. Par la méthode des injections vitales de matières colorantes, KOWALEVSKY ainsi que CUÉNOT ont montré que l'organe de Bojanus élimine les colorants du groupe indigo. Dans les cellules du même organe on a souvent constaté la présence de volumineuses concrétions, les néphrolithes, que l'on considère en général comme des déchets.

Les glandes péricardiques fonctionnent comme des organes accessoires de l'excrétion. Dépourvues de canaux excréteurs, elles sont classées parmi les « néphrocytes clos », accumulant sous forme de boules certains déchets puisés dans le sang. D'après CUÉNOT les boules sont ensuite capturées par les phagocytes. Les uns passent par diapédèse à travers les épithéliums des branchies, des palpes, et disparaissent dans l'eau de mer (DE BRUYNE, CUÉNOT), les autres disséminent les déchets dans les régions indifférentes du corps, dans les lacunes, de telle sorte que le corps entier des animaux âgés est plus ou moins encombré d'excréta.

Au point de vue chimique, les recherches ont porté principalement sur les concrétions et d'une façon plus générale sur l'extrait total de l'organe de Bojanus. En outre, quelques auteurs ont cherché à identifier les déchets azotés contenus dans les extraits de l'animal entier.

Acide urique. — En 1855, alors que chez les Acéphales la fonction excrétrice de l'organe de Bojanus n'était pas démontrée, RICHE et DE LACAZE-DUTHIERS ont réussi à isoler du rein de *Lucraria* des cristaux d'acide urique, ce qui leur a permis d'affirmer le rôle excréteur des cellules Bojaniennes. Il s'agit là, toutefois, d'un fait isolé. Chez les Mactres, les mêmes auteurs, utilisant la même technique, n'ont pas obtenu des résultats aussi nets, et l'idée leur est venue que peut-être chez *Mactra* l'organe de Bojanus excrète de l'urée à la place d'acide urique. Cette idée devait être reprise plus tard par LETELLIER.

On sait actuellement que les concrétions bojaniennes sont constituées en majeure partie de substances minérales, princi-

palement de phosphates de chaux et de magnésie (SIEBOLD-BABO, SCHLOSSBERGER, LETELLIER), et que d'autre part elle ne contient pas en général d'acide urique. Chez *Pinna*, SCHLOSSBERGER n'en a pas trouvé dans les calculs et VOIT est arrivé au même résultat négatif. D'après GRIESBACH, les concrétions d'*Anodonta* n'en contiennent pas ; d'après KRUKENBERG, il en est de même pour celles de *Pinna*, *Spondylus*, *Mactra*, *Ostrea*, *Tapes*, *Mytilus*, *Pecten*, etc...

Les recherches qui ont porté sur l'extrait total de l'organe de Bojanus ont donné des résultats concordants. En particulier LETELLIER, qui a examiné à ce point de vue vingt-deux espèces différentes d'Acéphales, n'a obtenu que des résultats négatifs.

Comme il est possible que l'acide urique se trouve dans un autre organe que l'organe de Bojanus, la recherche de ce corps dans l'extrait de l'animal entier n'était pas superflue.

En opérant sur 50 moules entières MARCHAL n'a pu caractériser la présence d'acide urique. De même, SULIMA a constaté l'absence de ce corps dans l'extrait total de *Cardium tuberculatum* et de *Mytilus edulis*. Le même résultat a été récemment obtenu par PRZYLECKI pour les tissus broyés de l'*Anodonta* et de la *Mye*.

La recherche de l'acide urique dans l'eau où avaient vécu des Acéphales n'a été faite encore à ma connaissance qu'une seule fois par PRZYLECKI, pour l'*Anodonta* et pour la *Mye*. Le résultat a été négatif. Cet auteur signale, en outre, que l'acide urique injecté à une *Anodonta* est dégradé et excrété sous forme d'allantoïne. Mais comme il a vu, d'autre part, que l'allantoïne n'est pas un déchet excrété normalement par l'*Anodonta*, l'absence d'acide urique ne peut être expliquée par ce mécanisme de dégradation.

Bases xanthiques. — Peu de recherches ont été faites dans cette direction. Dans les concrétions de *Pectunculus*, VOIT a signalé l'absence de guanine et de xanthine ; d'après KRUKENBERG celles de *Pinna* ne contiennent pas de guanine. Dans le corps de Bojanus de *Mya arenaria*, TURCHINI a signalé la présence de grosses boules puriques, qui apparaissent vivement colorées en noir par la réaction de COURMONT et ANDRÉ.

Urée et ammoniacque. — L'acide urique ne serait-il pas remplacé chez les Acéphales par de l'urée ? Cette question posée depuis longtemps par LACAZE-DUTHIERS et RICHE reste encore obscure.

A vrai dire, la présence d'urée chez les Lamellibranches a été signalée par KRUKENBERG dans le foie d'*Arca* et de *Mytilus*, par GRIFFITHS et FOLLOWS dans l'extrait des néphridies d'*Anodonta*, et surtout par LETELLIER, qui a conclu de ses nombreuses recherches sur l'organe de Bojanus de *Mytilus*, *Anodonta* et *Cardium*, que l'urée s'y trouve régulièrement en quantité notable et y remplace l'acide urique.

V. FÜRTH se basant sur le peu de précision des méthodes utilisées par ces auteurs pour caractériser l'urée (dégagement gazeux en présence d'hypobromite ou de réactif de Millon, précipitation sous forme d'azotate et d'oxalate) n'a accordé aucune valeur à ces recherches. La même critique peut encore s'appliquer à la technique utilisée par BAYLAC, qui a analysé le liquide contenu entre les écailles de l'Huitre et y a trouvé en quantité assez notable (0,11 à 0,16 gr. par litre) une substance titrable à l'hypobromite comme l'urée.

On était alors d'autant plus enclin à douter de la présence d'urée chez les Lamellibranches que quelques auteurs avaient obtenu des résultats négatifs. C'est ainsi que JANSEN n'a pas trouvé d'urée dans le muscle de la Moule, or on sait actuellement que l'urée très diffusible se trouve dans tous les organes.

Actuellement, les méthodes de dosage de l'urée par l'uréase, et par le xanthidrol permettent d'aborder la question avec beaucoup plus de sécurité.

La présence d'urée peut être considérée comme certaine depuis les recherches de FOSSE, qui a obtenu un précipité de xanthyl-urée avec les liquides inclus entre les écailles de la Moule et de l'Huitre. L'urée figure donc parmi les déchets excrétés par les Lamellibranches, mais on ne sait encore rien sur la part relative de ce corps dans l'excrétion.

Ammoniacque. — L'excrétion d'ammoniacque par les Lamellibranches a été très peu étudiée. La seule recherche faite dans cette direction est due à PRZYLECKI, qui a dosé N H^3 ainsi que N total dans de l'eau distillée où avaient séjourné des Ano-

dontes, à une température de 16°-18°. Pour 100 gr. et pour 24 heures, il a trouvé 2,3 mgr. d'N total, dont 6,3 % sous forme d'N H³. Lorsque les animaux sont placés dans de l'eau acidifiée (par addition d'une certaine quantité de SO⁴H² N,10), la quantité d'azote total excrété s'élève beaucoup, ainsi que le rapport de N (N H³) à N total, qui peut atteindre 60 %. Signalons, en outre, que PRZYLECKI a constaté que de l'urée mise en présence des tissus broyés de la Moule est décomposée avec libération d'ammoniaque. Il admet que la Moule contient de l'uréase, en quantité assez abondante, car 100 gr. de tissus frais ont décomposé en 24 heures 23,2 mgr. d'urée.

I. — *Mya arenaria*

Le matériel d'étude a été récolté suivant la technique déjà décrite. A deux reprises, j'ai étudié comparativement la répartition de l'azote non protéique dans l'eau de mer où avaient vécu les animaux et dans le liquide inclus entre les écailles; liquide qui est formé en grande partie par le liquide cavitaire. Les résultats obtenus s'étant montrés très voisins, je n'ai donné dans le tableau qu'un seul chiffre, le chiffre moyen. En outre, j'ai recherché les déchets azotés dans le foie frais, la masse génitale et le muscle (tableau I).

Notre méthode d'analyse nous a permis d'identifier seulement la moitié des corps azotés présents dans le milieu extérieur. Il est possible que l'imperfection de la technique en soit en partie la cause. D'une part, en effet, il m'a semblé que l'acide trichloracétique utilisé pour la désalbumination ne précipite qu'incomplètement le mucus secrété par les animaux. D'autre part, j'ai constaté que l'eau de mer est plus ou moins souillée par des matières en suspension provenant de l'intestin.

Quoi qu'il en soit, il se dégage de cette étude quelques faits.

Pour 100 d'azote total excrété, l'excrétion ammoniacale de la Mye est plus importante (21,5 %), que celle de l'Anodonte qui n'est que de 6 % d'après PRZYLECKI. L'excrétion d'azote aminé (18 %) est notablement supérieure à celle de l'azote uréique (4,5 %) et de l'acide purique soluble (5 %). Le liquide interne (inclus entre les écailles) renferme les mêmes substances, avec

cette différence toutefois qu'on y trouve une plus grande quantité d'azote aminé, et que, d'autre part, il semble contenir une petite quantité d'acide urique. On obtient, en effet, assez facilement une coloration bleue lorsqu'on ajoute directement dans le liquide la solution de NaCy et le réactif arséno-tungstique.

TABLEAU I.

Mya arenaria —	Eau de mer		Liquide interne		Foie	Masse génitale	Muscle
	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 gr.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 gr.	Mgr p. 100 gr.	Mgr p. 100 gr.
N protéique	Traces	—	38,60	—	1595,0	1433,0	2407,0
N non protéique.....	2,00	—	10,00	—	805,0	547,0	681,0
N (N H3).....	0,43	21,5	0,48	4,8	32,0	12,0	15,0
N (N H2).....	0,36	18,0	3,00	30,0	375,0	261,0	360,0
N urée	0,09	4,5	0,50	5,0	6,6	2,5	4,0
N purique.....	0,10	5,0	—	—	23,0	18,0	16,0
N A urique.....	Traces	—	0,12	1,2	1,0	0,4	0,9
N Ph W filtrat.....	0,80	40,0	4,56	4,6	565,0	465,0	—
N Ph W précipité ..	1,20	60,0	5,44	54,4	240,0	82,0	—
N dose	0,98	49,0	3,98	39,8	—	—	—

Il en est de même pour les extraits désalbuminés des organes. Le foie donne la coloration la plus forte. Il semble donc que l'acide urique n'est pas absent de l'organisme de la Mye, mais pour admettre cette donnée, en contradiction avec les recherches de SULIMA, des recherches plus précises sont nécessaires.

Enfin, il ressort de l'examen du tableau que pour 100 gr. d'organes, la charge en ammoniacque et en urée du foie est notablement plus élevée que celle des autres organes étudiés.

En vue de déterminer la nature des déchets évacués par les néphridies, j'ai recueilli ces organes dans l'alcool chaque fois que les animaux ont été sacrifiés. J'en ai fait de même pour le kristal styl., dont le rôle physiologique est encore peu connu. Voici les résultats obtenus exprimés p. 100 d'N non protéique, comparativement au foie :

	Néphridies	Kristal-styl	Foie
N non protéique.....	100,0	100,0	100,0
N formol ($N H^2 + N H^3$).....	49,0	9,8	51,0
N urée	17,9	11,0	0,8
N purique	9,0	15,0	3,0
N a. urique,.....	4,0	Traces	0,1

Il n'est pas douteux que les néphridies sont relativement plus riches en urée et en corps puriques que le foie.

II. — *Gryphœa angulata* et *Mytilus edulis*

Mes recherches ont porté sur des animaux achetés au marché. J'ai analysé plusieurs fois le liquide contenu entre les écailles d'Huîtres portugaises. Aussitôt après avoir été recueilli, le liquide a été filtré, puis acidifié par l'acide trichloracétique en vue de le désalbuminer. Dans le tableau II j'ai donné le chiffre moyen de 3 analyses. En outre, j'ai étudié comparativement les déchets azotés dans l'extrait des animaux entiers avant et après autolyse pendant 16 heures à 38° en présence de chloroforme. Voici les résultats obtenus (Voir tableau II).

Le liquide des Huîtres contient un peu d'albumine (0,50 ctgr. environ par litre). J'ai trouvé une quantité plus faible que BAYLAC, qui considère ce liquide « comme un véritable liquide organique ». On observe par addition de réactif de Tanret une forte opalescence et même un trouble, qui disparaît à chaud. Il en est de même d'ailleurs pour le liquide interne de la Mye. Dans ces conditions, il était intéressant de doser l'azote peptidique, c'est-à-dire l'azote aminé libérable par hydrolyse. Dans ce but, le

liquide désalbuminé a été concentré et repris par H Cl 3 N. L'hydrolyse et le dosage ont été effectués suivant les indications données au chapitre II.

Liquide des Huitres	Avant hydrolyse		Après hydrolyse	
	Mgr dans 100 ccm	Rapport o/o	Mgr dans 100 ccm	Rapport o/o
N non protéique.....	6,22	—	—	—
N (N H ³)	0,45	7.2	0,99	15.9
N (N H ²)	0,82	13.1	1,86	29.8
N dosé	—	20.3	—	45.7

TABLEAU II.

	Eau des Huitres		Huitre (animal entier) Mgr p. 100 gr.			Moule (animal entier) Mgr p. 100 gr.		
	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Av. au- tolyse	Ap. au- tolyse	Plus- value	Av. au- tolyse	Ap. au- tolyse	Plus- value
N protéique..	7,35	—	—	—	—	—	—	—
N non pro- téique....	6,22	—	198,0	302,0	104,0	326,0	465,0	129,0
N (N H ³)	0,45	7,2	3,8	9,8	6,0	6,0	18,0	12,0
N (N H ²)	0,82	13,1	102,0	133,0	29,0	157,0	231,0	74,0
N urée	0,20	3,2	3,1	1,5	—	2,9	2,7	—
N purique ..	—	—	6,5	16,5	10,0	5,7	19,2	13,5
N A urique .	0,01	0,2	0,0	0,0	0,0	Traces	Traces	—
N Ph W fi- trat	2,25	36,0	150,0	210,0	60,0	230,0	315,0	70,0
N Ph W pré- cipité	3,97	64,0	48,0	92,0	44,0	96,0	150,0	59,0

Il n'est pas douteux que le liquide contient au moins autant d'azote aminé combiné que d'azote aminé libre. Il est donc relativement riche en peptones (16.7 %).

Après addition du réactif arséno-tungstique dans le liquide alcalinisé par la solution de cyanure de sodium, il se produit *tardivement* une coloration bleue assez faible, moins intense que pour le liquide interne de la Mye.

Les extraits totaux de l'Huitre et de la Moule contiennent en petite quantité de l'ammoniaque, de l'urée et des corps puriques. Après auto-digestion, l'ammoniaque, l'azote aminé et l'azote purique augmentent un peu. La plus-value est bien plus faible que celle qui se manifeste au cours de l'autolyse des cœcums des Astéries ou de l'hépatopancréas des Crustacés, par exemple. Au cours de l'autolyse, l'urée diminue, fait qui s'accorde avec l'existence chez la Moule d'une uréase (PRZYLECKI). Enfin les extraits de *Mytilus* donnent avec le réactif arséno-tungstique une légère coloration bleue, qui se manifeste après un certain temps, et est plus nette que celle qui est obtenue dans les mêmes conditions avec l'extrait total des Huîtres.

En résumé, il n'est pas douteux que les Lamellibranches excrètent en quantité notable les mêmes déchets que les invertébrés déjà étudiés, c'est-à-dire de l'ammoniaque, de l'azote aminé et de l'urée. Pour ce qui est de l'excrétion d'acide urique, il n'est guère possible de conclure, mais, si ce mode d'excrétion existe, son rôle est à coup sûr négligeable.

Céphalopodes

Les Céphalopodes sont, comme on sait, des invertébrés très actifs ; ils se classent parmi les êtres inférieurs les mieux différenciés au point de vue anatomique et physiologique. Si l'on considère, en outre, qu'ils sont essentiellement carnivores, et qu'il est possible de recueillir dans leurs sacs rénaux un liquide, qui est l'équivalent de l'urine des Vertébrés, il apparaît que ces êtres représentent un matériel de choix pour l'étude de l'excrétion azotée.

Plusieurs organes participent à l'excrétion. On peut distinguer l'appareil excréteur principal, les néphridies rénales appelées encore corps spongieux, appendices veineux, organes fungiformes, et l'appareil excréteur accessoire, représenté par divers

organes : les cœurs branchiaux et leur appendice, les glandes salivaires (?), le foie et l'intestin.

Au point de vue anatomique et histologique les corps spongieux ont été bien étudiés. Dans la revue de STROHL et dans la thèse de TURCHINI, on trouvera un récent exposé de la question.

KOWALEVSKY ainsi que CUÉNOT ont montré que les corps spongieux éliminent les colorants du groupe indigo et n'éliminent pas ceux du groupe carmin d'ammoniaque.

Ils entourent les gros troncs veineux qui se rendent aux branchies et flottent dans une cavité dite « sac rénal », qui renferme quelques centimètres cubes d'un liquide visqueux, plus ou moins trouble, que l'on considère comme de l'urine. Il est, en effet, évacué par les uretères qui s'ouvrent à droite et à gauche du rectum.

Afin d'obtenir chez le Poulpe une plus grande quantité de liquide urinaire V. FÜRTH a lié les uretères. L'animal opéré est ensuite replacé dans les bassins et sacrifié quelques jours plus tard. Les sacs rénaux sont pleins 1 à 3 jours après l'opération, et la quantité d'urine obtenue chez un seul animal peut atteindre 140 ccm.

MAYER et RATHERY ont critiqué cette méthode de récolte. Ils estiment que l'urine ainsi obtenue n'est pas normale et préconisent la récolte de l'urine par fistule.

D'après FÜRTH, l'urine (obtenue après ligature des uretères) contient pour 100 parties : eau 94,68 — substances minérales 3,63 — albumine 0,12 — autres substances organiques 1,57 ; elle renferme plus d'N protéique que d'N non protéique (tableau I). La répartition de l'azote non protéique a été étudiée par la méthode de PFAUNDLER et de LANGE, l'ammoniaque a été dosée par la méthode de SCHLÆSING, et l'azote total non protéique d'après KJELDHAL.

V. FÜRTH a, en outre, essayé de doser l'azote uréique par la méthode Mörner-Sjöqvist avec séparation de l'N par l'acide phosphorique. Il a obtenu des résultats si variables qu'il estime finalement, que l'urine du Poulpe ne renferme probablement pas d'urée, et que l'urée est peut-être remplacée, au moins en partie, comme chez les vertébrés inférieurs, par de l'acide urique. Il insiste sur la part importante de l'ammonia-

que dans l'excrétion (1/5 environ), et sur l'albuminurie physiologique des Céphalopodes. Il a encore indentifié la présence d'hypoxanthine en quantité notable, et isolé un corps acide azoté cristallisable, précipitable par l'acétate de mercure, de nature inconnue. Par contre l'urine ne contient pas de taurine, de guanine, etc.

TABLEAU I

Poulpe (d'après Fürth)	Urine A.		Urine B.	
	Mgr p. 100 ccm.	Rapport o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapport o/o
N protéique.....	19,20	—	11,20	—
N non protéique.....	4,20	—	3,40	—
N (N H ₃).....	0,77	18,6	0,63	18,6
N Ph W filtrat.....	1,30	33,7	1,30	38,2
N Ph W précipité....	2,70	64,3	2,10	61,8

Une fonction excrétrice interne (reins clos) a été attribuée par CUÉNOT aux cellules de la paroi du cœur branchial et de son appendice, en se basant sur le fait qu'elles fixent le carmin ammoniacal. En vue de déterminer la nature des produits d'excrétion CUÉNOT, GONET et BRUNTZ ont fait quelques recherches chimiques, desquelles ils ont conclu que les déchets contenus dans les cœurs branchiaux sont des sels ammoniacaux et des bases xanthiques.

D'après HENZE, les glandes salivaires du Poulpe excrètent certains déchets azotés, en particulier ceux qui prennent naissance dans le muscle. C'est ainsi que la taurine que l'on trouve en abondance dans le muscle des Céphalopodes, alors qu'elle n'existe pas dans l'urine (d'après FÜRTH), serait éliminée par la sécrétion salivaire, en même temps qu'une autre substance non

identifiée, de nature basique, qui précipite avec les réactifs des alcaloïdes. Dans le même ordre d'idées signalons que BOTAZZI a trouvé dans la salive du Poulpe de l'histamine alors qu'il n'a pas trouvé de thyramine, substance que HENZE dit avoir identifiée dans l'extrait alcoolique de la glande.

La fonction excrétrice du foie et de l'intestin est encore peu connue. Niée par FRENZEL et par ENRIQUES, elle a été admise par CUÉNOT, qui a montré que certaines cellules du foie, les cellules vacuolaires, fixent au niveau des vacuoles des colorants (Iodgrün, Eichroth E) plus facilement que les corps spongieux. Vingt-quatre heures après l'injection, les excréments contiennent des vacuoles vertes ou rouges. En outre, le foie des Céphalopodes, comme celui des Gastéropodes arrête certaines substances provenant du tube digestif, les immobilise et les évacue ensuite dans l'intestin. D'après MAYER et RATHERY, il intervient comme le rein pour le maintien de la constance physico-chimique du sang.

Les processus biochimiques de l'excrétion ont été moins étudiés que les processus histo-physiologiques. Nous avons déjà signalé les recherches classiques de V. FÜRTH sur l'urine du Poulpe. Il nous reste à examiner les divers travaux qui ont eu pour but l'identification des déchets azotés ou le mécanisme de leur formation.

Ammoniaque. — Signalée pour la première fois dans l'urine de l'*Elédone* par LINDEMANN, elle forme, d'après FÜRTH, $\frac{1}{5}$ environ de l'azote urinaire du Poulpe.

J'ai déjà fait connaître la teneur en ammoniaque du sang de la Seiche et du Poulpe. Voici les résultats déjà publiés, en mgr. pour 100 ccm. :

	N non protéique	N (NH ₃)	Rapport o/o
Seiche { N° 1	12,0	3,8	31.6
{ N° 2	15,0	2,4	16.0
Poulpe	—	3,8	—

Le sang des Céphalopodes est certainement plus riche en ammoniaque que celui des vertébrés. D'autre part, il n'est pas douteux que les organes renferment ce corps en quantité notable.

Pour 100 gr. de foie de Seiche j'ai trouvé 17 à 20 mgr. d'N (NH_3); dans le muscle des Octopodes HENZE a trouvé 7.48 % d'ammoniaque.

Urée. — Malgré de nombreuses recherches, dont on trouvera le résumé dans le tableau II, la question est actuellement très discutée.

TABLEAU II.

Auteurs	Matériel étudié	Espèce	Technique	Résultat
P. Bert 1867	Urine	Seiche	Nitrate d'urée	Négatif
L. Frédéricq 1878	Urine	Poulpe	id.	Négatif
Lindemann 1900	Urine	Elédone	BroNa nitrate et oxalate urée	Positif
W. Fürth 1900	Urine	Poulpe	Méthode Mörner-Sjöqvist	?
Henze 1905	Muscle	Octopodes	—	Négatif
L. Sanzo 1907	Foie	Seiche	BroNa	42 mgr. p. 100 gr.
	Muscle	Calmar	id.	4 mgr. p. 100 gr.

Acide urique. — Sa présence dans les concrétions cristallines, adhérent aux corps fungiformes, ou en suspension dans le liquide visqueux contenu dans les sacs néphridiens, paraît bien démontrée pour la Seiche et pour le Poulpe.

Chez la Seiche, les concrétions cristallines ont une belle coloration rouge vermillon qui a attiré l'attention de HARLESS et de Paul BERT. Utilisant la réaction de la murexide ils ont reconnu qu'elles renfermaient de l'acide urique. D'après MARCHAL, la presque totalité des cristaux rouges est formée d'acide urique libre : « un calcul est dissous dans l'eau bouillante, il se reprécipite par refroidissement non pas des urates mais des cristaux

d'acide urique ». Il signale toutefois la présence d'une faible quantité d'urate de chaux.

Chez le Poulpe, l'étude des concrétions du sédiment a donné des résultats moins nets. LINDEMANN et HESSLING y ont signalé la présence de sphéro-cristaux qui seraient formés d'acide urique ; mais les recherches de L. FRÉDÉRICQ n'ont pas abouti au même résultat. Après évaporation de la dissolution azotique du sédiment, il reste un résidu coloré en jaune citron, qui en présence d'ammoniaque ne donne pas la coloration rouge caractéristique. FRÉDÉRICQ a été ainsi conduit à admettre que le sédiment renferme non pas de l'acide urique mais de la xanthine ou de la guanine.

V. FÜRTH a repris cette étude. Il lui a été possible en traitant convenablement le sédiment d'isoler à l'état pur des cristaux d'acide urique. Il conclut que non seulement les concrétions des Seiches mais aussi celles des Poulpes sont principalement formées d'acide urique et d'urates.

Ces données laissent supposer que l'acide urique est un déchet normal du métabolisme des Céphalopodes. Nous avons vu que cette opinion, qui paraît logique, a été admise par FÜRTH qui a pensé que ce déchet peut remplacer l'urée. Elle n'a pas été retenue par BURIAN et par SULIMA. D'après ces auteurs, les concrétions uriques sont probablement formées par les Dicyémides, parasites que l'on trouve en abondance dans les organes spongieux. « Fait curieux, dit STROHL dans sa revue (page 334), l'urine des Céphalopodes ne contient pas ou ne contient que des traces d'acide urique. Ainsi, à une présence non douteuse d'acide urique dans les concrétions, correspond l'absence complète de cette même substance dans le milieu ambiant. Ce fait surprenant a été constaté un grand nombre de fois par BURIAN (communication orale) à la Station biologique de Naples, ce qui l'a conduit à penser que peut être les Dicyémides que l'on trouve en abondance dans les corps spongieux participent au phénomène. »

SULIMA a accepté cette opinion, à l'appui de laquelle il a fourni quelques arguments. Dans le foie du Poulpe il n'a pas trouvé d'acide urique. Dans le macéré de l'organe soumis à l'auto-digestion, en présence d'oxygène ou non, il ne se forme

pas d'acide urique. Le résultat est le même lorsqu'on ajoute au macéré du malonate de soude et de l'urée, du glyccolite ou de l'asparagine. Dans le foie du Poulpe il n'y aurait donc formation d'acide urique ni par oxydation ni par synthèse.

Les récentes recherches de PRZYLECKI sur la répartition et la dégradation de l'acide urique chez les Invertébrés arrivent à une conclusion tout à fait différente. D'après cet auteur, en effet, la Seiche et le Poulpe « renferment et excrètent en abondance l'acide urique ». Il a étudié les tissus broyés ainsi que l'eau où avaient séjourné les animaux. Il a constaté, en outre, que l'acide urique injecté à l'animal vivant est excrété en totalité. Mélangé aux tissus broyés, il reste inattaqué. L'étude comparée de l'excrétion de l'acide urique chez le Poulpe, avant et après injection d'urée et d'ammoniaque, lui a permis de conclure que l'animal synthétise facilement l'acide urique « à partir de corps simples ne renfermant pas le cycle purique ». Enfin, des expériences exécutées sur les Poulpes et les Seiches prouvèrent que les tissus broyés de ces animaux « oxydent facilement les bases puriques, adénine et guanine, jusqu'à l'étape définitive de l'acide urique ».

Bases puriques. — V. FÜRTH n'ayant trouvé dans l'urine du Poulpe que des traces d'acide urique, a recherché dans ce liquide des bases puriques. L'urine (50 ccm.) est saturée d'ammoniaque et filtrée pour se débarrasser du précipité gélatineux. Dans le filtrat, les bases puriques sont précipitées par addition de la solution ammoniacale d'azotate d'argent. Le précipité de purates argentico-magnésiens contient surtout de l'hypoxanthine. Il ne contient pas de xanthine, d'adénine et de guanine. L'excrétion d'hypoxanthine serait assez notable (0,08 gr. environ par litre d'urine).

Nous avons déjà vu que d'après CUÉNOT, GONET et BRUNTZ les cœurs branchiaux contiennent des corps xanthiques. HENZE a dosé dans le muscle l'azote purique total, il a trouvé 45,6 mgr. % dont une partie appartient à l'hypoxanthine. Du muscle de l'Elédone, D. ACKERMANN, HOLTZ et KUTCHER ont isolé de l'adénine et de l'arginine.

1. — *Sepia officinalis*

A). — *Les déchets azotés de l'urine et du sang*

De grosses Seiches viennent pondre au printemps dans le bassin d'Arcachon ; elles disparaissent ou deviennent rares à partir de Juin. En automne on pêche surtout de petites Seiches. Mes recherches sur le sang et l'urine ont été faites sur les grosses Seiches du printemps. Ce point méritait d'être précisé, car il n'est pas douteux que les conditions d'observation sont utiles à connaître.

La récolte du liquide urinaire a été faite directement dans le sac rénal à l'aide d'un compte gouttes chez des animaux encore vivants (*cf.* chapitre II). Sur d'autres animaux, le sang a été recueilli à l'aide d'une canule très fine introduite dans l'aorte dorsale. L'opération est assez délicate. L'animal étant fixé sur sa face ventrale, on sectionne rapidement, avec de gros ciseaux, le manteau tout autour de l'os, qui est finalement rabattu du côté de la tête. Dans le tissu conjonctif qui réunit les deux lobes du foie, on découvre facilement l'aorte dorsale qui est isolée sur une certaine longueur, après avoir été mise à nu.

Les résultats des analyses ont été consignés dans le tableau I.

Au point de vue chimique, voici les conclusions qui se dégagent de l'examen du tableau :

1°) L'urine de la Seiche contient une petite quantité d'albumine (0,19 et 0,32 gr. par litre).

2°) La teneur en N non protéique de l'urine est élevée (plus de 100 mgr. dans 100 ccm.). Nous avons déjà vu que, d'après FÜRTH, la teneur en N non protéique de l'urine du Poulpe n'est que de 3 à 4 mgr. p. 100 ccm. Une différence aussi considérable ne peut s'expliquer qu'en admettant, avec MAYER et RATHERY, que l'urine recueillie dans les sacs rénaux après ligature des uretères n'est pas normale.

3°) L'azote titrable au formol représente le déchet le plus important (70 à 80 % de N excrété).

4°) L'excrétion d'azote ammoniacal est beaucoup plus forte (64 à 70 %) que l'excrétion d'azote aminé (7 à 8 %).

5°) Une petite quantité d'azote est excrétée sous forme d'urée (2 %) et sous forme de corps puriques (3 à 5 % environ), dont 2 % seulement appartenant à l'acide urique.

TABEAU I

Sépia	Urine				Sang			
	Mgr p. 100 ccm		Rapport o/o		Mgr p. 100 ccm		Rapport o/o	
	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2	N° 1	N° 2
N protéique.	31,6	31,3	—	—	1680,0	1830,0	—	—
N non protéique ...	142,0	123,0	—	—	14,8	26,0	—	—
N (N H ₃)....	92,0	87,0	64,4	69,6	2,8	4,8	18,9	18,4
N (N H ₂)....	12,0	9,0	8,4	7,2	7,1	9,2	48,0	33,3
N urée.....	3,0	1,8	2,1	1,4	1,2	1,9	8,1	7,3
N purique....	7,0	4,0	4,9	3,2	—	1,8	—	6,9
N A urique .	3,2	2,6	2,2	2,1	0,1	0,4	0,7	1,3
N Ph W (filtrat).....	43,0	31,0	30,3	40,8	—	19,8	—	76,2
N Ph W (précipité)...	99,0	74,0	69,7	39,2	—	6,2	—	23,8
N dosé	114,0	101,8	79,8	81,4	11,2	17,7	73,7	67,9

L'étude comparée de la répartition des déchets azotés contenus dans l'urine et dans le sang est intéressante au point de vue physiologique. Les déchets excrétés par les corps fungiformes se trouvent dans le sang, il s'agit donc bien d'excrétion et non de sécrétion. Mais le fait le plus important est relatif au changement de concentration opéré par les corps fungiformes. Ceux-ci ne sont pas, en effet, de simples appareils de dialyse comme

les glandes antennaires des Crustacés, ils fournissent, comme le rein des Vertébrés, un certain travail de concentration et de sélection élective, déjà signalé par MAYER et RATHERY.

Le changement de concentration est particulièrement élevé pour l'ammoniaque. Pour un même volume, en effet, l'urine contient 20 à 25 fois plus d'ammoniaque que le sang ; pour l'urée le changement de concentration est presque nul ; il est un peu plus marqué, mais encore faible, pour les corps puriques et l'acide urique.

B) — *Les déchets azotés contenus dans les sécrétions*
(*Liquide gastrique, Encre*)

L'élimination des déchets par voie digestive méritait d'être examinée. Nous avons vu, en effet, que d'après CUÉNOT, le foie fixe certaines matières colorantes qu'il évacue ensuite dans l'intestin. D'autre part, MAYER et RATHERY ont constaté que certaines substances (urée, glucose, chlorure de sodium) injectées dans les veines du Poulpe sont éliminées rapidement par les corps fungiformes et aussi par le foie et l'intestin.

L'analyse du liquide que l'on trouve, en plus ou moins grande quantité, dans le cœcum spiral et l'estomac de la Seiche a été faite plusieurs fois. Voici la composition de deux échantillons :

TABLEAU II

Liquide gastrique		N protéique	N non protéique	N (N H3) N	N (H2) N	N urée	N purique	N acide urique
N° 1	Mgr pour 100 ccm.	269,0	184,0	9,6	30,4 (libre)	Traces	22,0	—
	Rapport o, o	—	—	5,2	16,3	—	12,0	—
N° 2	Mgr pour 100 ccm.	—	240,0	16,8	84,0 libre 48,0 combiné	1,2	18,0	0,7
	Rapport o o	—	—	7,0	33,4	0,3	7,3	0,3

La forte teneur du liquide en albumine et en peptones est le fait dominant; celui-ci présente donc les caractères d'un liquide de sécrétion et non d'excrétion ; à vrai dire, il contient des décnets azotés, mais la quantité en est si faible qu'il n'est pas possible d'admettre que le foie possède vis-à-vis de ces corps un pouvoir de sélection élective. En outre, j'ai recherché la présence d'acide urique dans les excréments recueillis dans l'intestin de Seiches en digestion, le résultat a été négatif.

En résumé, il apparaît, contrairement à l'opinion de quelques auteurs, que la fonction excrétrice des corps fungiformes est de première importance et qu'elle suffit à l'état normal à assurer l'évacuation des déchets provenant des échanges azotés ; il est possible toutefois que la voie digestive soit utilisée dans certaines circonstances, après ligature des uretères par exemple, mais il s'agit alors d'un phénomène pathologique.

L'importance du rôle excréteur des corps fungiformes ressort encore d'une autre observation.

Lorsque les Seiches sont menacées d'un danger, elles rejettent, comme on sait, un liquide noir, sécrété par une glande spéciale située dans la poche du noir.

On aurait pu croire que ce liquide, évacué par intermittence et en assez grande quantité dans le milieu extérieur, servait de voie d'élimination pour les déchets azotés. Il n'en est rien. Dans l'extrait désalbuminé du liquide recueilli dans la poche du noir, je n'ai trouvé, en effet, qu'une quantité très faible d'azote non protéique (10,0 mgr. p. 100 ccm.) et que des traces d'acide urique.

C) — *Les déchets azotés contenus dans le foie frais
et autolysé*

Pour avoir quelques renseignements sur le rôle du foie dans les formations des déchets, j'ai étudié à diverses reprises les modifications de l'azote non protéique consécutives à l'auto-digestion. On trouvera quelques résultats dans le tableau III. Cette étude était indiquée, car le foie des Céphalopodes est l'organe essentiel de l'assimilation. Il absorbe les matériaux solubles de la digestion (CUÉNOT), et, d'autre part, ainsi que je l'ai

déjà montré, met en réserve sous forme d'albumine les corps azotés de la protéolyse digestive.

TABLEAU III

Sépia — Mgr. pour 100 gr.	Foie n° 1			Foie n° 2			Muscle
	Organe frais	Après auto- lyse	Plus- value	Organe frais	Après auto- lyse	Plus- value	
N protéique	2286,0	1384,0	—	2462,0	—	—	2032,0
N non protéique ...	1134,0	2072,0	938,0	870,0	1980,0	1086,0	960,0
N (N H ₃)	43,0	131,0	88,0	47,0	94,0	47,0	12,0
N N H ₂)	339,0	1080,0	721,0	310,0	823,0	513,0	392,0
N urée	11,2	123,0	111,8	24,7	69,0	44,3	8,0
N purique	—	—	—	26,0	93,0	69,0	42,0
N A urique	2,4	8,4	6,0	6,2	12,3	6,3	0,8

Voici les remarques que l'on peut faire au sujet de cette étude :

1°) Le foie frais contient beaucoup d'ammoniaque (40 à 50 mgr. p. 100 gr.), il renferme en moindre quantité et en quantité plus variable de l'urée (6 à 25 mgr. environ) et de l'acide urique (3 à 17 mgr.).

2°) Au cours de l'autolyse, les déchets qui prennent naissance sont l'ammoniaque, l'urée et l'acide urique. L'ammoniaque est toujours libérée en quantité notable ; pour l'urée, il existe d'assez fortes variations. Quoique mes observations ne soient pas assez nombreuses pour me permettre de conclure, il m'a semblé que l'uréogénèse s'observe surtout pour le foie des petites Seiches capturées en automne. J'ai observé, en outre, la formation d'urée par autolyse dans le muscle des mêmes animaux, ce

qui laisse supposer la présence d'arginine et d'arginase non seulement dans leur foie mais aussi dans leur muscle. Une petite quantité d'acide urique prend naissance au cours de l'autodigestion du foie.

3°) Une quantité importante d'albumine et de nucléines est dégradée pendant l'autolyse, dégradation qui se traduit par la forte plus value des acides aminés et des corps puriques.

La teneur élevée de l'organe frais en déchets, ainsi que l'intensité des phénomènes chimiques qui s'effectuent pendant l'autolyse, sont des indications intéressantes. Elles s'accordent avec l'idée qu'une partie des déchets prend naissance dans le foie, aux dépens des matériaux accumulés sous forme d'albumine de réserve. Le foie, organe d'absorption et d'assimilation, joue certainement un rôle important dans la désassimilation.

D) *La répartition p. 100 de l'N non protéique
dans quelques organes*

L'étude du rapport de l'N des déchets à l'N non protéique total dans les extraits désalbuminés d'organes peut donner des renseignements sur l'excrétion. A vrai dire, certains déchets très diffusibles sont répartis uniformément, mais il en est d'autres qui s'accumulent plus ou moins dans l'organe où ils se forment, ou dans l'organe qui est chargé de les éliminer.

De l'examen du tableau IV, qui résume les recherches faites dans cette direction, il n'est pas douteux que les organes dont la charge en ammoniacque est relativement la plus forte, sont les organes digestifs (foie et pancréas) ainsi que les corps fungiformes. Il en est de même pour l'acide urique, que l'on ne trouve dans le muscle et les œufs qu'à l'état de traces. La charge en azoté purique des organes fungiformes est particulièrement élevée (22 %). Ce fait confirme les observations histochimiques de TURCHINI qui a signalé que les granulations contenues dans les cellules du corps spongieux de *Sepia* donnent les réactions chimiques des bases puriques.

TABLEAU IV

Rapport pour 100 d'N non protéique	N (N ^{H3})	N (N ^{H2})	N urée	N purique	N ^{acide} urique
Foie 1	3,8	32,5	1,0	—	0,2
Foie 2	3,4	35,6	2,8	3,1	0,7
Liquide gastri- que 2	7,0	55,4	0,5	7,5	0,3
Muscle	1,3	40,5	0,8	4,3	0,08
Pancréas	6,3	42,0	2,9	6,7	0,5
Œufs	3,2	34,0	2,5	6,7	0,0
Corps fungifor- mes	5,0	27,0	2,0	22,0	4,0

II. — *Octopus vulgaris*

Les Poulpes sont beaucoup plus rares que les Seiches dans le bassin d'Arcachon. Je n'ai eu à ma disposition que deux animaux, sur lesquels j'ai fait quelques recherches, que je donne à titre d'indication, dans le tableau V.

D'une façon très générale on retrouve chez le Poulpe les mêmes déchets azotés que chez la Seiche. Toutefois, il existe certaines différences qui méritent d'être signalées.

L'urine d'*Octopus* contient relativement plus d'azote purique que l'urine de *Sepia*. Pour l'ammoniaque c'est l'inverse. Cette différence est peut être liée à l'état de nutrition des animaux, car j'ai recueilli l'urine chez des Seiches récemment capturées et en pleine digestion, alors que l'urine des Poulpes provenait d'animaux à jeun, ayant séjourné dans les bassins.

La formation d'urée par autolyse dans le foie du Poulpe s'est montrée très faible (3,5 mgr.) alors qu'elle était considérable pour le foie des petites Seiches.

TABLEAU V

Octopus	Urine		Sang		Foie		Corps fungiformes	Glandes salivaires
	Mgr. p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr. p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Organe frais	Plus- value (auto- lyse)		
N protéique.	—	—	1703,0	—	2546,0	—	—	—
N non pro- téique....	120,0	—	14,0	—	690,0	750,0	625,0	645,0
N (N H ₃)	40,0	33,3	1,6	11,4	30,0	28,0	26,2	15,0
N (N H ₂) . . .	15,0	12,5	—	—	248,0	287,0	262,0	240,0
N urée.....	—	—	1,2	8,5	10,5	3,5	75,0	27,0
N purique ..	30,0	25,0	—	—	45,0	37,0	80,0	75,0
N A urique .	1,7	1,4	Traces	—	16,0	13,0	3,1	7,4
N Ph W (fil- trat).....	45,0	37,5	10,5	75,0	390,0	315,0	425,0	480,0
N Ph W pré- cipité....	75,0	62,5	3,5	25,0	300,0	435,0	200,0	165,0
N dosé.....	85,0	70,8	—	—	—	—	—	—

L'extrait désalbuminé des corps fungiformes d'*Octopus* contient, comme celui de *Sepia*, beaucoup d'azote purique, mais il contient, en outre, beaucoup d'urée (12,0 %).

Dans l'extrait des glandes salivaires l'azote purique se trouve en quantité importante (11,6 %).

*
* *

On peut tirer quelques conclusions de l'ensemble des recherches qui viennent d'être exposées. Elles se rapportent, d'une

part, à la physiologie des corps fungiformes, d'autre part, au chimisme de l'excrétion.

1°) Le rôle excréteur des corps fungiformes apparaît comme fondamental. De même que le rein des Vertébrés, ces organes fonctionnent comme des appareils de concentration et de sélection élective, en particulier pour l'ammoniaque et les purines

2°) L'excrétion par voie digestive et par les glandes salivaires n'est qu'accessoire à l'état normal.

3°) Dans une large mesure (40 à 80 %) les déchets azotés excrétés par les corps fungiformes appartiennent au groupe azote formol. L'excrétion ammoniacale est la plus importante, elle dépasse 60 % chez la Seiche en digestion, l'excrétion d'azote aminé est toujours beaucoup plus faible (8 à 15 %).

4°) L'urée et l'acide urique sont des déchets normaux des échanges chez les Céphalopodes. Ils sont présents dans l'urine, le sang et au sein des organes, principalement dans le foie. Leur part dans l'excrétion urinaire est faible (2 %).

5°) Les corps puriques sont excrétés en quantité variable par les corps fungiformes. L'excrétion purique du Poulpe semble plus forte que celle de la Seiche, mais cela tient peut-être à l'état de la nutrition des animaux et de nouvelles recherches sont nécessaires pour préciser ce point.

6°) Le foie joue un rôle important dans la formation des déchets azotés. Il est plus riche en ammoniaque, urée, acide urique que le muscle ; soumis à l'autodigestion, ces déchets sont mis en liberté en quantité notable ainsi que des corps puriques.

Gastéropodes

L'étude anatomo-histologique associée à la méthode des injections de matières colorantes a permis de reconnaître que l'excrétion, chez les Gastéropodes, est assurée principalement par l'appareil néphridien ou organe de Bojanus, qui élimine les colorants du groupe indigo. Accessoirement, diverses cellules du tissu conjonctif (cellules excrétrices closes se colorant par le carmin d'ammoniaque) ainsi que le foie, participent à l'ex-

crétion. D'après CUÉNOT, les cellules excrétrices du foie sont capables de fixer les produits toxiques provenant de l'alimentation et de les éliminer ensuite par voie intestinale. Certains produits d'excrétion seraient de même évacués avec les excréments, auxquels ils donnent leur coloration.

Au point de vue biochimique, l'excrétion azotée des Gastéropodes est encore mal connue. A vrai dire, il a été fait de nombreuses recherches pour déterminer la nature chimique des concrétions que l'on trouve souvent en abondance dans le rein, mais il est difficile d'en tirer une conclusion générale car l'étude des déchets azotés solubles a été tout à fait négligée.

Ammoniaque et urée. — Quelques recherches ont été faites pour identifier ces déchets, mais on ne s'est pas encore occupé de reconnaître leur importance relative dans l'excrétion.

HESSE a recueilli les excréta totaux de l'Escargot de vigne et dosé l'azote total excrété, qui s'élevait à 3,85 mgr. par kilo et par heure. L'excrétion d'ammoniaque s'est montrée nulle ou presque. A l'aide de sa méthode au xanthidrol, FOSSE a pu identifier la présence d'urée chez *Helix*, dans le suc de l'animal entier ainsi que dans les produits de sécrétion et d'excrétion.

Dans le liquide cavitairé de l'Aplysie, SANZO a trouvé en moyenne 1,95 mgr. d'urée pour 100 cc. D'après COUVREUR, le sang d'*Helix* contiendrait beaucoup d'urée ou une substance voisine de l'urée (320 mgr. p. 100 cc. à l'hibernation et 187 mgr. au réveil).

Les résultats que j'ai déjà publiés ne concordent pas. J'avais trouvé, en effet, pour le sang d'*Helix* les chiffres suivants (mgr. pour 100 cc. chez des animaux à jeun) :

N non protéique	N urée	N (N H ₃)	N (N H ₂)
11	4,0	1,2	3,0
	(36,4%)	(10,9%)	(27,3%)

Des résultats du même ordre ont été obtenus plus récemment

par MYERS, qui a étudié le sang de quelques Gastéropodes marins. Voici quelques chiffres obtenus, en mgr. pour 100 cem. :

	N non protéique	N urée	N (N H ³)	N (N H ₂)
Cryptochiton Stelleri.	23,0	3,50	0,50	13,0
o/o	—	14,0	2,0	52,0
Haliotis rufescens ...	23,3	2,27	0,13	—
o/o	—	9,7	1,9	—

Pour ce qui est de la teneur en ammoniacque des organes des Gastéropodes, il existe aussi quelques documents. Pour 100 gr. de foie d'*Helix*, j'ai trouvé 9,0 mgr. d'N (N H³), c'est-à-dire une quantité relativement faible.

Le foie des Mollusques marins (*Haliotis*, *Cryptochiton*, etc.) contiendrait, d'après ALBRECHT, plus d'ammoniacque que le foie des Vertébrés (28 à 50 mgr. p. 100 gr., au lieu de 22).

L'urée a été recherchée et dosée dans le foie de l'Aplysie par L. SANZO. Il a trouvé en moyenne 13,0 mgr. p. 100 gr., quantité bien inférieure à celle que contient le foie de la Seiche (43,0 mgr.). Il explique le fait par la différence dans le mode d'alimentation, les Aplysies se nourrissant d'algues, alors que la Seiche est carnivore.

Acide urique. — Dans les concrétions du rein de l'Escargot ce déchet se trouve en si grande abondance, à l'état libre ou sous forme d'urates, qu'il suffit, pour le caractériser facilement à l'aide de la réaction de la murexide, de recueillir le magma d'aspect blanc laiteux contenu dans l'organe. Cette observation faite par JACOBSON, en 1820, a été trouvée exacte par un grand nombre d'auteurs (DAVY, etc.). Des reins de 150 *Helix* venant de Bourgogne, MARCHAL a pu isoler à l'état pur de l'acide urique ; il estime qu'un seul organe en contient plus de 7,0 mgr.

De là à conclure que l'excrétion azotée de l'Escargot s'effectue principalement sous forme d'acide urique il n'y avait qu'un pas, qui paraît avoir été souvent franchi. On y était d'ailleurs autorisé, car la recherche des autres déchets azotés, en particulier de

l'urée, a longtemps donné des résultats négatifs (LETELLIER, d'après MARCHAL).

La question qui a le plus préoccupé les physiologistes est la suivante : l'acide urique est-il excrété à l'état libre ou sous forme d'urates ? Elle n'est pas encore résolue. D'après GIROD, l'acide urique contenu dans les concrétions serait transformé en urate de soude par une glande alcaline spéciale, située à l'entrée de l'uretère ; mais les recherches de CUÉNOT n'ont pas confirmé cette donnée. Les concrétions seraient formées d'acide urique et d'urates d'après NAEPLA, MECKEL.

Si la présence d'acide urique n'est pas discutée chez *Helix*, il n'en est pas de même pour les autres Gastéropodes. D'après MARCHAL « il est à remarquer que c'est surtout chez les Pulmonés qu'il est fait mention d'acide urique ». Il signale toutefois que KRUKENBERG n'a pas trouvé ce déchet d'une façon constante chez *Arion ater* et qu'il y a peut-être des espèces chez lesquelles l'acide urique ne serait pas constant, se rencontrant chez un individu alors qu'elle fait défaut chez un autre.

Chez les Prosobranches et les Opistobranches les recherches sont moins nombreuses que pour les Pulmonés. Il s'ensuit qu'il est difficile de conclure d'une façon générale. Toutefois il existe actuellement assez de documents pour ne plus accepter l'opinion que l'acide urique se forme surtout chez les Pulmonés.

RICHE et LACAZE-DUTHIERS ont depuis longtemps signalé la présence d'acide urique chez le Pleurobranche et GRIFFITHS chez la Patelle. Plus récemment, SULIMA a découvert la présence d'une grande quantité d'acide urique dans le foie de l'Aplysie (40 à 200 mgr. p. 100 gr. d'organe frais).

En vue de déterminer le mécanisme de formation de ce déchet, par oxydation des bases puriques, ou par synthèse à partir de corps acycliques, SULIMA a dosé l'acide urique dans le macéré du foie soumis à l'autodigestion après addition soit de glyco-colle, de malonate de soude et d'urée, soit de xanthine. Dans le premier cas seulement il y a eu plus value d'acide urique, qui se formerait donc par synthèse comme dans le foie des Oiseaux et des Reptiles. PRZYLECKI a confirmé cette donnée ; il n'a pas trouvé de xanthin-oxydase dans les tissus broyés et a constaté

en outre que l'acide urique injecté à des Aplysies est excrété en totalité.

MENDEL et WELLS ont identifié l'acide urique dans le foie de *Sycotypus canaliculatus*. Après hydrolyse acide de l'organe, l'acide urique et les purines ont été précipités et isolés par la méthode de Krüger. Ils ont retiré 42 mgr. d'acide urique de 750 gr. d'organe frais, soit 5,6 mgr. pour 100 gr.

Bases puriques. — Leur présence a été souvent signalée dans les concrétions, et d'une façon plus générale, dans l'extrait de l'organe de Bojanus, ce qui laisse supposer que l'excrétion azotée des Gastéropodes s'effectue en partie sous forme de corps puriques. Il serait même possible, d'après certains auteurs, que chez quelques espèces les purines soient excrétées à la place de l'acide urique.

A l'aide de la méthode histo-chimique aux sels d'argent, TURCHINI a constaté que la réaction argentique est franche au niveau des grains jaunes et des concrétions du rein d'*Helix aspersa*. Dans l'extrait du même organe la présence de guanine a été signalée par EWALD et KRUKENBERG, GORONOWITZCH, NALEPA, BIAL, CUÉNOT qui n'a pu mettre en évidence l'acide urique dans les concrétions de quelques Pulmonés y a trouvé une leucomaïne xanthique. D'après BARFUTH le rein d'*Arion* contient de la xanthine.

Lorsqu'on dissout les concrétions ou l'organe entier dans une solution azotique à chaud et que l'on recherche ensuite après évaporation la réaction de la murexide sur le résidu, il arrive souvent qu'elle est peu nette (coloration jaune orangé) ; elle serait alors masquée d'après LAMBERTENGHI par la présence de bases xanthiques en excès qui auraient pour origine le noyau. Pour éviter cette cause d'erreur, LAMBERTENGHI a utilisé pour dissoudre les concrétions ou l'organe de Bojanus une solution alcaline (CO_3Na^2 à 5 %). Dans ces conditions, il a obtenu facilement la belle coloration rouge de la murexide, caractéristique de l'acide urique.

Quelques recherches ont été faites sur la teneur en purines du foie.

D'après TURCHINI, une catégorie de cellules du foie des Hélicidés élimine des corps puriques, qu'il a pu identifier par la

méthode argentique. Chez *Sycotypus canaliculatus*, MENDEL et WELLS ont fait des recherches intéressantes. Dans le foie de ce Gastéropode, ils ont trouvé, après hydrolyse acide, une quantité notable de bases puriques (adénine, guanine, hypoxanthine), les mêmes que celles qui ont été isolées des organes similaires des animaux supérieurs. Ils ont vu, en outre, que les nucléines du foie sont dégradées dans une large mesure, lorsque l'organe est soumis à l'autodigestion, et concluent à l'existence d'une *nucléase* et d'*amidases* (adénase et guanase). Les recherches faites dans le but de déterminer l'existence de diastases oxydantes (xanthin-oxydase, diastase uricolytique) ont donné des résultats négatifs.

Chez *Helix*, PRZYLECKI, opérant avec les tissus broyés de l'animal entier, n'a pas obtenu un résultat concordant. D'après ses recherches, en effet, l'*Helix* possède le pouvoir de former de l'acide urique à partir de la guanine et de la xanthine (tableau XLI, page 191). Chez *Aplysia* toutefois, il n'a pas trouvé, d'accord avec SULIMA, de xanthin-oxydase.

Signalons enfin qu'ALBRECHT a trouvé seulement des traces d'azote purique dans le foie d'*Haliotis*, de *Cryptochiton*, d'*Ischnochiton*.

I. — *Aplysia limacina* .

J'ai étudié à deux reprises l'excrétion azotée de l'*Aplysie*. Les premières recherches (N° 1) ont été faites en Avril sur de petits animaux ; les autres (N° 2) en Octobre sur de gros animaux.

Les déchets évacués dans le milieu extérieur ont été recueillis en plaçant quelques animaux dans un cristalliseur contenant de l'eau de mer en quantité suffisante pour qu'ils soient submergés. L'eau a été renouvelée matin et soir.

Le liquide cavitairé, très abondant, a été obtenu par ouverture de la cavité générale, à l'aide de ciseaux, dans la région de l'œsophage et de l'estomac. Il est nécessaire de ne pas léser le tube digestif, et d'éviter, autant que possible, le mélange du liquide cavitairé avec la sécrétion violette, qui se produit alors en assez grande abondance.

Il est bon de faire une incision assez large pour que la masse

viscérale passe tout entière à travers l'incision, car la récolte est ainsi rendue plus facile.

Dans le tableau I, j'ai noté les résultats de l'étude comparée de la répartition de l'azote non protéique dans l'eau de mer, où avaient vécu les animaux, pendant 24 heures, et dans le liquide cavitare.

TABLEAU I

Aplysie	Recherches N° 1				Recherches N° 2			
	Eau de mer		Liquide cavitare		Eau de mer		Liquide cavitare	
	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o
N protéique.	—	—	—	—	—	—	7,60	—
N non protéique.....	0,54	—	5,16	—	0,40	—	2,20	—
N (N H3)	0,20	37,0	0,67	14,0	0,12	30,0	0,18	8,2
N (N H2).....	0,07	13,0	1,60	31,0	—	—	0,70	31,8
N urée.....	0,04	7,4	0,20	3,9	0,04	10,0	0,05	2,3
N purique...	0,10	18,5	0,20	3,9	0,06	15,0	0,09	4,1
N A purique.	0,05	9,2	0,12	2,3	Traces	—	0,07	3,2
N Ph W filtrat.....	0,23	42,5	—	—	—	—	1,80	81,7
N Ph W précipité.....	0,31	57,5	—	—	—	—	0,40	18,3
N dosé.....	0,41	75,9	2,67	52,8	0,22	55,0	1,02	46,4

Les Aplysies excrètent de l'ammoniaque, de l'azote aminé et de l'urée. La totalité de ces déchets représente plus de la moitié de l'azote excrété. L'ammoniaque est excrétée en quantité plus forte (30 %) que l'azote aminé (13 %) et que l'azote uréique (7 à

10 %). Dans le liquide cavitare on trouve ces déchets, mais leur rapport avec l'azote non protéique est différent. Pour l'azote aminé le rapport est plus élevé (32 %); pour N (NH₃) il est plus faible (8 à 14 %), ainsi que pour l'N urée (2,3 à 3,9 %).

Une certaine quantité d'azote (15 à 20 %) est excrétée sous forme de composés puriques, dont une partie à l'état d'acide urique. L'excrétion d'acide urique est variable, il est possible que l'acide urique ne soit évacué que par intermittence.

B) — *Les déchets azotés contenus dans le foie, le liquide gastrique et l'organe de Bojanus*

Les résultats des analyses sont notés dans le tableau II.

TABEAU II

Aplysie	Mgr N dans 100 gr.				Rapport o/o d'N non protéique			
	Foie N° 1			Foie N° 2	Foie N° 1	Foie N° 2	Liquide gastrique	Organe de Bojanus
	Organe frais	après autolyse	Plus value	Organe frais				
N protéique.	1080	530.0	—	—	—	—	—	—
N non protéique.....	600.0	1050	450.0	712.0	100.0	100.0	100.0	100.0
N (NH ₃).....	17,5	70,0	52,5	12,5	2,9	1,7	4,8	4,0
N (NH ₂).....	120,0	305,0	185,0	60,0	20,0	8,4	6,0	12,0
N urée.....	4,0	3,5	—	9,0	0,6	1,2	7,2	8,0
N purique...	60,0	132,0	72,0	61,0	10,0	8,5	—	—
N A urique..	24,5	40,6	16,1	46,8	4,1	6,5	6,6	13,3
N Ph. W filtrat.....	330,0	630,0	300,0	—	35,0	—	27,0	74,0
N ph W précipité....	270,0	420,0	150,0	—	45,0	—	73,0	26,0

En ce qui concerne le foie, nos recherches confirment celles de SULIMA. Il n'est pas douteux que l'organe frais contient une notable quantité d'acide urique, et que celle-ci augmente après autodigestion, mais, en même temps, il y a mise en liberté d'ammoniaque, d'azote aminé et d'azote purique ; l'urée n'augmente pas, peut-être par suite de sa transformation en acide urique.

Il est possible que l'acide urique soit évacué en partie par voie digestive, ainsi d'ailleurs que l'urée. Dans le liquide gastrique, en effet, ces déchets se trouvent en quantité notable. Il est curieux de constater, par exemple, que le liquide gastrique contient relativement autant d'urée que l'extrait de l'organe de Bojanus, et est, d'autre part, assez chargé en acide urique.

L'organe de Bojanus de l'Aplysie n'est pas, comme celui d'*Helix*, un rein d'accumulation ; sa charge en urée (12 %) et en acide urique (13,3 %) est relativement faible.

La formation d'acide urique par synthèse dans le foie de l'Aplysie, ainsi que la forte teneur en acide urique de l'organe frais sont des faits intéressants ; ils ne permettent pas, toutefois, de conclure que le métabolisme de l'Aplysie est analogue à celui des Oiseaux et des Reptiles, puisque l'acide urique ne figure que pour une part relativement faible parmi les déchets excrétés. Il est possible que l'acide urique s'accumule dans le foie de l'Aplysie par suite de l'insuffisance de la fonction excrétrice de l'organe de Bojanus, mais ce n'est là qu'une hypothèse.

II. *Hélix pomatia*

A. — *Les déchets azotés évacués dans le milieu extérieur*

Nous avons vu que l'on admet, en général, que l'excrétion azotée de l'Escargot s'effectue sous forme de concrétions plus ou moins volumineuses, contenues dans l'organe de Bojanus, qui sont évacuées par intermittence d'après CUÉNOT. Formées d'acide urique et de corps puriques, elles sont très peu solubles dans l'eau. L'excrétion de l'Escargot serait donc essentiellement une excrétion solide.

Il ne s'ensuit pas toutefois que l'excrétion liquidienne soit sans importance. Il était intéressant de rechercher l'élimination

des déchets azotés solubles, étude qui n'a pas encore été faite à notre connaissance. Suivant cette idée directrice, nous avons fait d'assez nombreuses recherches, qui nous ont permis de mieux connaître l'excrétion d'*Helix*. Voici la technique qui a été utilisée pour la récolte des excréta solubles :

Quelques animaux (10 à 12), à jeun ou alimentés sont placés dans un cristalliseur contenant une mince couche d'eau et recouvert d'un treillis métallique. Matin et soir, le liquide est renouvelé, les animaux sont lavés ainsi que le cristalliseur. Les liquides, qui présentent souvent une coloration jaune, sont filtrés et désalbuminés aussitôt après avoir été recueillis. Le dosage des déchets azotés est effectué sur le liquide total après concentration. En 2 ou 3 jours la récolte est suffisante pour les analyses. J'ai utilisé pour ces recherches, d'une part des animaux réveillés, sortant de la période hibernale, et d'autre part, des animaux alimentés avec des feuilles de chou. Cinq analyses ont été faites pour les animaux à jeun, et six pour les animaux alimentés. Ne pouvant donner ici le détail des analyses, j'ai noté seulement dans le tableau III les limites et la moyenne générale du rapport de l'azote des déchets à l'azote non protéique total.

Il n'est pas douteux que les Escargots excrètent sous forme soluble une quantité importante de déchets azotés, parmi lesquels figurent non seulement des composés puriques et des urates, mais aussi de l'ammoniaque, de l'urée et un peu d'azote aminé.

B. — *Les déchets azotés contenus dans le sang, le rein,
le foie frais et autolysé*

Le sang a été recueilli au niveau du cœur, chez l'animal débarassé en partie de sa coquille, après incision du péricarde. La préparation de l'extrait désalbuminé des organes a été faite suivant la technique habituelle. Un seul point mérite d'être signalé pour l'organe de Bojanus. Dans le filtrat de cet organe il se forme, après refroidissement, un dépôt cristallin d'acide urique, de telle sorte que l'acide urique dosé ne correspond pas à la totalité de l'acide urique existant dans l'organe.

Les résultats des analyses ont été réunis dans le tableau IV.

Contrairement à ce que l'on aurait pu supposer, vu l'abondance des concrétions uriques dans l'organe de Bojanus, la teneur en acide urique du sang de l'Escargot est relativement faible, elle est inférieure à celle de l'urée et de l'ammoniaque. Il n'en est pas de même pour les Oiseaux, dont le sang contient beaucoup d'acide urique (4,8 mgr. p. 100 ccm. d'après FOLIN).

TABLEAU III

Hélix — Liquides contenant les excréta	Répartition o/o de l'N non protéique					
	Animaux à jeun			Animaux alimentés		
	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.	Môy.
N (N H3)	12,3	36,3	22,2	7,1	23,3	13,7
N (N H2)	3,3	10,0	7,0	3,2	6,4	3,2
N urée	8,0	23,8	16,8	10,0	34,3	22,0
N purique	10,0	29,1	19,0	5,1	21,4	16,3
N A urique	2,4	10,0	7,0	4,0	20,0	10,7
N Ph W filtrat ...	38,0	74,0	64,0	34,0	72,0	63,3
N Ph W précipité.	24,0	40,0	36,0	28,0	46,0	34,3
N dosé	—	—	63,0	—	—	57,4

D'accord avec les études histologiques, l'analyse chimique démontre que l'organe de Bojanus est un rein d'accumulation pour les corps puriques et l'acide urique ; en outre, elle permet de mettre en évidence un fait qui n'avait été signalé : la teneur relativement forte de l'organe en urée.

Le foie frais contient une très petite quantité d'ammoniaque et d'urée, et un peu plus d'acide urique. Après autolyse, on constate une légère plus value de ces déchets. La plus value presque

nulle pour l'urée, est plus marquée, mais encore faible, pour l'ammoniaque et l'acide urique. D'autre part, la dégradation des protéiques et des nucléines est à peine sensible; elle ne peut être comparée, comme intensité, à celle qui a été déjà signalée pour l'hépto-pancréas des Crustacés, le foie de la Seiche, etc.

TABLEAU IV

Helix	Sang (à jeun)		Organe de Bojanus		Foie (organe frais)		Foie (après auto- lyse)	
	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 gr.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 gr.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 gr.	Plus- value
N protéique.	180,0	—	—	—	—	—	—	—
N non pro- téique....	6,80	—	322,0	—	286,0	—	378,0	92,0
N (NH ₃).....	1,20	17,6	9,0	1,7	9,4	3,2	20,9	11,3
N (NH ₂)....	1,30	22,0	37,0	7,0	72,0	23,2	100,0	28,0
N urée.....	0,90	15,0	58,0	11,1	4,0	1,4	5,8	1,8
N purique..	2,10	30,8	382,0	72,9	56,0	19,6	79,0	23,0
N a. urique..	0,34	5,0	137,0	26,1	16,0	5,6	28,0	12,0
N Ph W (fil- trat).....	4,2	61,8	102,0	19,6	112,0	39,2	—	—
N Ph W pré- cipité.....	2,6	38,2	420,0	80,4	174,0	70,8	—	—
N dosé	5,7	83,4	—	92,7	—	—	—	—

En résumé, mes recherches confirment certains points de l'excrétion azotée déjà connus : l'accumulation de déchets xantho-uriques dans l'organe de Bojanus et la formation d'acide urique par autolyse dans le foie ; elles démontrent, en outre, que l'excrétion azotée ne s'effectue qu'en partie sous forme

solide. Lorsque l'animal est éveillé, il excrète en quantité notable des déchets solubles, en particulier de l'ammoniaque et de l'urée.

Il est évident que l'élimination des déchets solubles n'est possible que lorsque l'animal absorbe une certaine quantité d'eau. Pendant l'hibernation, ou en période de sécheresse, ce mode d'excrétion ne joue plus.

Comme, d'autre part, c'est pendant cette période de blocage de l'excrétion que se forment les concrétions uriques, on peut supposer que l'acide urique prend naissance aux dépens de l'ammoniaque et de l'urée, qui, ne pouvant être excrétées, seraient alors transformées en acide urique. Il ne s'agit là, bien entendu, que d'une hypothèse, mais d'une hypothèse acceptable, car chez la Limace, ainsi que nous allons le montrer, le déchet principal est l'urée.

III. — *Limax agrestis*

Nous avons étudié deux fois l'excrétion azotée de Limaces rouges, qui venaient d'être recueillies et étaient en pleine digestion. Les premières recherches (N° 1) ont été faites en Octobre 1925, et les autres (N° 2) au mois d'Août de l'année suivante.

Les déchets azotés solubles évacués dans le milieu extérieur ont été récoltés de la même façon que pour les Escargots. Le sang des animaux a été recueilli par le procédé suivant. L'animal étant placé en position verticale, la tête en haut, au-dessus d'un verre à pied, on incise le tégument avec précaution, à l'aide de ciseaux mousses, dans la partie médiane de la région dorsale. Le sang s'écoule aussitôt, en même temps que la masse viscérale passe à travers l'incision. Il faut éviter, bien entendu, de léser le tube digestif. Le liquide recueilli prend une belle coloration bleue au contact de l'air.

Les résultats des recherches qui ont été faites comparative-ment pour le sang et les liquides contenant les excréta sont notés dans le tableau V.

Le fait le plus important qui se dégage de l'examen de ce tableau est assez inattendu. L'urée est le principal déchet azoté

excrété par la Limace, sa part dans l'excrétion peut atteindre 80 % de l'N excrété ; le sang en contient une si grande quantité, par rapport à l'azote non protéique, que l'on peut dire qu'il existe chez cet animal, lorsqu'il est en digestion, une véritable urémie.

TABEAU V

Limax agrestis	Recherches N° 1				Recherches N° 2			
	Eau contenant les excréta		Sang		Eau contenant les excréta		Sang	
	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o	Mgr p. 100 ccm.	Rapp. o/o
N protéique.	—	—	174,0	—	—	—	—	—
N non protéique....	6,00	—	18,00	—	17,70	—	36,0	—
N (N H3)	0,30	3,0	1,40	7,8	0,75	4,2	—	—
N (N H2)	0,18	2,9	3,20	17,7	0,10	0,5	—	—
N urée	3,70	61,4	12,20	67,7	14,35	80,3	32,0	88,8
N purique ..	1,00	16,6	—	—	0,92	5,1	—	—
N A urique .	0,42	6,9	Traces	—	0,54	3,0	0,1	0,3
N Ph W filtrat	4,95	82,6	15,9	88,4	16,2	91,6	—	—
N Ph W précipité ...	1,05	17,4	2,1	11,6	1,5	8,4	—	—
N dosé	5,18	85,9	16,8	93,2	16,12	90,1	32,1	89,1

Inversement, il est curieux de constater que l'excrétion de l'azote titrable au formol est très faible, elle est seulement de 5 % pour l'ammoniaque et encore plus basse pour l'azote aminé.

L'acide urique ne figure, lui aussi, que pour une très faible part parmi les déchets évacués dans le milieu extérieur. A vrai

dire, il est possible qu'il ait échappé en partie à nos recherches, vu son insolubilité dans l'eau, mais nos recherches sur le sang laissent supposer qu'il ne se forme qu'en très petite quantité au cours des échanges ; le sang n'en contient, en effet, que des traces. La coloration que l'on obtient après addition du réactif est peu nette, elle n'est pas bleue mais verdâtre.

Signalons enfin l'excrétion en petite quantité de bases puriques (5 à 16 %).

Les déchets azotés contenus dans les organes

J'ai étudié la répartition de l'azote non protéique dans le foie et dans l'organe de Bojanus des Limaces, qui avaient servi pour les précédentes recherches. Les organes N° 1 provenaient des mêmes animaux que le sang N° 1, etc. En outre, j'ai déterminé, pour les foies 1 et 2, la teneur en déchets azotés du macéré hépatique dans l'eau salée, soumis à l'autodigestion pendant 16 heures à 38°, en présence de chloroforme.

Les résultats des analyses sont notés dans le tableau VI.

Voici quelques observations au sujet de ces recherches :

1° Le foie frais de la Limace contient très peu d'ammoniaque (6 à 8 mgr. p. 100 gr.) ; il contient beaucoup plus d'urée, fait que laissent prévoir nos précédentes recherches, et des traces seulement d'acide urique. Je dois signaler, à ce sujet, que la recherche de l'acide urique dans l'extrait hépatique par le réactif arsено-tungstique donne des résultats douteux car, comme pour le sang, la coloration n'est pas bleue mais verdâtre, et le dosage colorimétrique est souvent impossible. Il en est de même pour l'extrait désalbuminé du liquide digestif qui donne d'ailleurs une coloration très faible.

2° Au cours de l'autodigestion du foie, de l'ammoniaque est mise en liberté en quantité notable. L'uréogénèse est plus faible et aussi plus variable. La formation d'acide urique très nette pour le foie 1 a été nulle pour le foie 2.

3° L'organe de Bojanus de la Limace n'a pas présenté, au même degré que celui de l'Escargot, les caractères d'un rein d'accumulation pour les corps xantho-uriques. On y trouve, en

effet, en quantité presque égale à celle des bases puriques, de l'ammoniaque et de l'urée. Sa teneur en acide urique est relativement beaucoup plus faible.

TABEAU VI

Limax agrestis	Mgr. N pour 100 gr.				N non protéique (Rapport o/o)		
	Foie n° 1		Foie n° 2		Foie n° 1	Foie n° 2	Organe Boje nus
	Organe frais	Autolyse Plus- value	Organe frais	Autolyse Plus- value			
N protéique	1093,0	—	—	—	—	—	—
N non protéique...	223,0	360,0	306,0	192,0	100,0	100,0	100,0
N (N H3)	6,0	46,3	8,0	21,0	2,6	2,6	20,0
N (N H2)	51,0	236,0	82,0	46,0	22,6	26,7	22,0
N urée	14,2	3,2	30,0	13,0	6,3	9,8	16,0
N purique	17,0	—	43,0	—	7,3	14,0	37,0
N acide urique	1,2	19,8	—	—	0,3	0,1	6,0
N Ph W filtrat	103,0	270,0	162,0	100,0	46,6	46,9	—
N Ph W précipité..	120,0	90,0	144,0	92,0	33,4	33,1	—

En résumé, il ressort de cette étude, qu'en période de digestion, tout au moins, l'excrétion azotée de la Limace s'effectue principalement, comme celle des vertébrés supérieurs, sous forme d'urée. Elle diffère donc notablement de celle de l'Escargot, qui excrète beaucoup d'acide urique, comme les Oiseaux.

CHAPITRE IV

ÉTUDE COMPARATIVE ET GÉNÉRALE

I. — Ammoniaque et bases azotées volatiles.

A) *L'excrétion ammoniacale ; essai sur les causes de sa variabilité*

Il se dégage de l'ensemble de nos recherches que les sels ammoniacaux, ou plus exactement les bases azotées volatiles, parmi lesquelles figure l'ammoniaque, sont excrétés en quantité très variable chez les invertébrés. Cette conclusion ressort bien de l'examen du tableau I, qui donne, classés par ordre de grandeur, le chiffre moyen et les chiffres limites du rapport de l'azote volatil titrable au formol p. 100 de l'azote total des liquides contenant les excréta.

Les variations de l'excrétion ammoniacale sont considérables, puisqu'elles vont de 4 à 80 % ; il est à noter, en outre, que l'excrétion ammoniacale des Gastéropodes pulmonés s'est montrée la plus faible, et que les invertébrés herbivores excrètent en général moins d'ammoniaque que les carnivores.

Il était intéressant de comparer ces résultats à ceux qui ont été obtenus pour l'urine des vertébrés inférieurs. Dans le tableau II j'ai classé par ordre de grandeur, quelques chiffres pris dans les travaux les plus récents.

Chez les Mammifères, l'excrétion ammoniacale a été l'objet de nombreuses recherches. Elle varie suivant le mode d'alimentation ; chez les carnivores elle est beaucoup plus forte que chez

TABEAU I

Espèces animales	Rapport N (N H3) p. o/o N total			Nombre des analyses
	Min.	Max.	Moy.	
Sangsue.....	71,1	78,9	76,4	4
Seiche.....	64,4	69,6	67,0	2
Carcinus mœnas....	63,8	71,4	67,8	3
Ecrevisse.....	52,7	64,5	59,6	3
Siponcle.....	—	—	50,0	1
Crabe tourteau.....	—	—	42,9	1
Lombric.....	20,4	48,0	40,5	4
Astérie.....	23,7	48,0	39,3	3
Aplysie.....	30,0	37,0	33,5	2
Poulpe.....	—	—	33,3	1
Oursin.....	26,2	30,0	28,1	2
Mye.....	—	—	21,5	2
Escargot.....	7,1	25,5	13,7	6
Limace.....	4,2	5,0	4,6	2

les herbivores. Le rapport de l'azote ammoniacal à l'azote total urinaire, est particulièrement faible pour l'urine du Lapin (0,1 à 0,3 %), alors que chez le Chien il atteint 4 à 5 %. Dans l'urine de l'Homme le rapport moyen est d'environ 4,5 % ; il peut s'élever à un chiffre beaucoup plus fort (15 à 20 %) dans les états d'acidose.

TABLEAU II

Espèces animales	Rapport o/o N (N H ₃) à N total			Auteurs
	Min.	Max.	Moy.	
Aligator.....	50,0	85,0	75,0	A. Hopping
Python (1).....	—	—	40,0	N. Fuse
Tortue (Chelone mydas)....	14,5	17,7	16,1	H. B. Lewis
Grenouille.....	9,8	20,9	15,0	Przylecki
Oie.....	10,0	15,0	13,5	N. Paton
Canard.....	—	—	3,2	Szalágyi ET Kriwuscha
Poule.....	—	—	1,49	
Baudroie (Lophius)	---	—	2,7	W. Denis
Chien de mer (Galeus canis).....	—	—	1,9	

(1) Partie liquidée de l'urine.

De cette étude comparative, il ne se dégage aucune conclusion nette, si ce n'est que la variabilité de l'excrétion ammoniacale s'observe chez les invertébrés comme chez les vertébrés, et que, d'autre part, s'il est exact que, le plus souvent, les invertébrés excrètent plus d'ammoniaque que les vertébrés, il existe des

exceptions. Il est curieux de constater, par exemple, que la Limace excrète très peu d'ammoniaque (5 %) alors que l'Alligator en excrète beaucoup (75 %).

Pour expliquer les variations de l'excrétion ammoniacale chez les invertébrés, PRZYLECKI a fait quelques recherches, qui l'on conduit à admettre que chez beaucoup d'invertébrés l'excrétion ammoniacale est réglée par le même mécanisme que chez les Mammifères, c'est-à-dire que l'ammoniaque est excrétée dans la mesure où elle sert à neutraliser les acides non combustibles, qui prennent naissance au cours des échanges.

La fonction neutralisatrice de l'ammoniaque ne fait aucun doute chez les Mammifères. L'excrétion ammoniacale varie avec la quantité d'acide que l'organisme doit neutraliser. Chez le carnivore, l'urine est acide et contient en quantité notable de l'ammoniaque, par suite d'un déficit dans l'alimentation des bases fixes (Na, K, Ca, Mg), nécessaires pour neutraliser les acides minéraux qui se forment par oxydation aux dépens de soufre et du phosphore des protéiques (acide sulfurique et acide phosphorique), ainsi que, le cas échéant, les acides organiques non combustibles (acide lactique, acide diacétique, acide oxylutyrrique). Chez l'herbivore, l'excrétion ammoniacale est presque nulle, car ces êtres trouvent dans leur alimentation assez d'alcalis pour saturer les acides libérés au cours des échanges et même pour rendre l'urine alcaline.

Afin de savoir si l'excrétion ammoniacale n'est pas conditionnée chez les invertébrés par le même mécanisme que chez les Mammifères, PRZYLECKI a placé des Anodontes et des Sangsues dans des solutions acides et alcalines, et déterminé les changements dans l'excrétion de l'azote total et de l'ammoniaque. Pour l'Anodonte maintenue dans l'eau distillée, le rapport de N ammoniacale à N total est de 5,6 % ; il s'élève jusqu'à 61 % lorsque l'animal est placé dans une solution convenablement acidifiée. Inversement, l'excrétion ammoniacale de la Sangsue, très forte (76 %) pour les animaux qui vivent dans l'eau distillée, diminue lorsque les mêmes animaux sont placés dans une solution alcaline (Co^3Na^2 0,10 à 0,20 %).

L'auteur conclut que « le mécanisme régulateur de l'excrétion ammoniacale se base sur les mêmes principes chez les différents types d'animaux (Vertébrés, Vers, Mollusques) » et que « chez un grand nombre d'invertébrés, il existe un mécanisme réglant l'alcalinité du milieu interne de l'animal ». En ce qui concerne la cause des différences dans l'excrétion d'ammoniaque chez les différentes espèces, il ajoute qu'en se basant sur les données de son travail : « il faudrait croire que ces différences proviennent de la quantité des bases minérales contenues dans le milieu intérieur, bases qui serviraient à neutraliser les acides produits par l'organisme » ; il estime enfin, comme très probable « qu'un grand rôle est réservé dans ce problème à l'alimentation, dont les cendres sont plus ou moins acides ».

Les conclusions de PRZYLECKI sont bien générales, étant donné le petit nombre de ses expériences.

Il admet qu'en principe la réaction des liquides du milieu intérieur s'équilibre avec celle du milieu extérieur. S'il en est ainsi, et si l'on considère que beaucoup d'invertébrés vivent dans l'eau de mer, dont le pH est élevé, il semble difficile d'étendre aux invertébrés marins les conclusions de PRZYLECKI. La réserve alcaline du milieu intérieur de ces êtres doit être suffisante pour assurer la neutralisation des acides mis en liberté au cours de la dégradation des aliments, sans faire intervenir la neutralisation ammoniacale.

Quoi qu'il en soit, nos recherches conduisent à une autre explication de la variabilité de l'excrétion ammoniacale chez les invertébrés, qui peut être ainsi formulée :

Les bases azotées volatiles représentent chez tous les invertébrés le déchet principal libéré aux cours des échanges ; chez les invertébrés dont l'excrétion ammoniacale est forte, elle sont évacuées rapidement par les émonctoires sous leur forme primitive ; chez les invertébrés dont l'excrétion ammoniacale est faible, elles sont en partie transformées en urée ou en acide urique. En d'autres termes, l'excrétion ammoniacale forte serait conditionnée dans une large mesure par l'impuissance de certains invertébrés dans la transformation des sels ammoniacaux en urée ou en acide urique. Chez le même animal, il est possible, en outre, de saisir des variations en sens inverse dans l'excré-

tion de l'urée et de l'ammoniaque, traduisant des variations individuelles de l'uréogénèse à partir des sels ammoniacaux.

Voici quelques faits à l'appui de cette hypothèse (tableau III).

TABLEAU III

Liquide contenant les excréta. — Rapport o/o	N (NH ₃)	N urée	N. Ac. urique
Astérie (Liquide 1).....	48,0	8,0	—
Astérie (Liquide 3).....	23,7	18,7	—
Lombric (en digestion).....	46,6	12,0	—
Lombric (à jeun).....	20,4	38,1	—
Seiche (urine 1).....	64,4	2,1	2,2
Escargot (en digestion).....	13,7	22,0	10,7
Limace (en digestion).....	5,0	61,4	6,9

D'autre part, il ressort de notre étude un autre fait assez curieux au point de vue biologique. Chez les invertébrés qui vivent dans l'eau, l'excrétion ammoniacale est souvent très forte ; elle s'est montrée, au contraire, peu importante chez les invertébrés terrestres, adaptés à la vie aérienne. Dans le même ordre d'idées, il semble aussi que ce soient en général les vertébrés inférieurs marins (à l'exception des Poissons), qui excrètent le plus d'ammoniaque.

Tout se passe comme si les êtres marins, dont l'épuration est constante et facile, excrétaient les bases azotées volatiles plus facilement que les animaux qui peuvent manquer d'eau de circulation dans diverses circonstances. Ceux-ci paraissent mieux adaptés à transformer les corps ammoniacaux en substance

moins toxique (urée) ou en déchets peu solubles (acide urique et urates) qui s'accumulent dans certains organes.

A l'appui de cette hypothèse, il est intéressant de rappeler quelques faits : 1° la surcharge en urée des hématies du Siponcle, qui semble bien être une modalité de la lutte contre une auto-intoxication de nature carbonique et ammoniacale ; 2° l'excrétion rapide de sels ammoniacaux injectés à des Crustacés, d'après MORGULIS ; 3° l'uréogénèse si intense chez la Limace ; 4° l'uricogénèse de l'Escargot et aussi de la plupart des Insectes.

En résumé, la conception de PRZYLECKI paraît trop exclusive. Il est possible que chez les invertébrés carnivores l'excrétion ammoniacale soit en partie conditionnée, comme chez les Mammifères, par la nécessité de saturer les acides provenant de la dégradation des protéiques, afin de maintenir constante la réaction alcaline du milieu vital ; mais ce n'est pas la seule cause. A cette cause, liée à la fonction neutralisatrice de l'ammoniaque, s'en ajoute une autre, la nécessité de diminuer le caractère toxique des bases azotées en les transformant en urée ou en acide urique, lorsque ces bases ne sont pas évacuées assez rapidement.

B) Le siège et les mécanismes chimiques de la production de l'ammoniaque

Chez les Mammifères, malgré de très nombreuses recherches, qui ne peuvent être exposées ici, on n'est pas encore exactement fixé sur l'origine de l'ammoniaque urinaire. Deux théories sont en présence qu'il nous suffira de rappeler brièvement.

La théorie généralement admise est la suivante : L'ammoniaque représente un déchet normal du fonctionnement cellulaire, elle est présente en petite quantité dans tout l'organisme, dans le sang et au sein des tissus. Mise en liberté d'une façon continue, elle est reprise par la circulation et transformée en urée par le foie, à l'exception d'une petite quantité, qui est excrétée, après avoir servi à la neutralisation des acides fixes en excès. Le rôle du rein se borne à excréter les sels ammoniacaux du sang, comme il excrète l'urée.

La deuxième théorie a été formulée assez récemment (1921) par NASH et BENEDICT. D'après ces auteurs, l'ammoniaque uri-

naire n'a pas pour origine les sels ammoniacaux du sang, elle est sécrétée en grande partie, sinon en totalité, par le rein. Ils ont constaté, en effet, que le taux de l'ammoniaque contenue dans le sang circulant (Chien) est minuscule, que le sang de la veine rénale est beaucoup plus riche en ammoniaque que le sang des autres territoires, que l'ammoniémie n'augmente pas après double néphrectomie, et qu'il n'existe aucun parallélisme entre l'ammoniémie et l'ammoniurie.

Ces faits, malgré leur intérêt, sont toutefois insuffisants pour rejeter la théorie classique, en ce qui concerne la formation constante d'ammoniaque au cours des échanges azotés.

Il n'en serait pas de même si, comme l'ont avancé quelques auteurs (HENRIQUES et GOTTLIEB, FONTÈS et YOVANOVITCH), il était démontré que le sang ne contient pas de sels ammoniacaux ; mais cette démonstration n'est pas faite.

Les conclusions de FONTÈS et YOVANOVITCH ont été récemment critiquées par PARNAS, qui, avec ses collaborateurs, a étudié la formation et la disparition de l'ammoniaque dans l'organisme à l'aide d'une technique très précise. Il a constaté que si le sang de la circulation générale ne contient de l'ammoniaque qu'en très petite quantité (0,025 mgr. d'N ammoniacal dans 100 ccm. chez l'Homme), il n'en est pas moins exact que dans divers territoires, le sang entraîne un peu d'ammoniaque, qui est aussitôt transformée en urée par le foie. Après ligature de l'artère hépatique, l'ammoniémie augmente ; il en est de même dans les états d'anoxhémie, etc. ; une source importante d'ammoniaque est le cœcum : le sang de la veine mésentérique cœcale contient cinq fois plus d'ammoniaque que le sang périphérique.

D'autre part, S. BLISS (1926) n'a pas accepté les conclusions de NASH et BENEDICT. Il confirme que le sang de la veine rénale contient plus d'ammoniaque que le sang de l'artère rénale, mais il ne conclut pas de ses recherches que le seul organe producteur d'ammoniaque soit le rein. Après double néphrectomie, l'ammoniémie du Chien augmente, lorsque l'animal ne vomit pas. Lorsqu'il vomit, l'ammoniémie reste normale, parce que l'ammoniaque est évacuée avec les matières rejetées. En ce qui concerne le lieu de formation de l'ammoniaque, BLISS admet

que les glandes, spécialement les glandes digestives (pancréas, estomac), produisent plus d'ammoniaque que les autres tissus.

TABLEAU IV

Espèces animales	Sang. Liquide cavitaire Mgr. N (NH ₃) p. 100 ccm.	Hépto pancréas		Muscle Mgr. N (NH ₃) p. 100 gr.
		Frais Mgr. N (NH ₃) p. 100 gr.	Autolysé Plus-value mgr.	
Astérie	0,30 à 0,45	9,5	43,0	—
Siponcle.	0,80 à 1,30	—	—	15,0
Maja.....	0,45 à 2,40	30,0	47,0	—
Ecrevisse.....	2,20	48,0	112,0	21,0
Crabe tourteau.....	0,80	28,0	—	16,0
Mye.....	0,48	32,0	—	15,0
Seiche.....	2,8 à 4,8	45,0	67,0	12,0
Poulpe.....	1,6	30,0	28,0	—
Aplysia.....	0,18 à 0,67	15,0	52,5	—
Escargot.....	1,20	9,4	11,5	—
Limace.....	1,40	7,0	33,7	—

Nos recherches chez les invertébrés sont d'accord avec la théorie classique. Dans le tableau IV, on trouvera une vue d'ensemble des résultats des analyses, en ce qui concerne la teneur moyenne en azote volatil titrable au formol, du sang et du liquide cavitaire, de l'hépto-pancréas et du muscle, ainsi que

la plus value des bases azotées volatiles après autolyse de l'organe hépato-pancréatique.

La présence de bases azotées volatiles titrables au formol, dans le sang ou le liquide cavitare des invertébrés, ne nous paraît pas discutable ; il semble même que le sang de certaines espèces (Céphalopodes) contient plus d'ammoniaque que celui des Mammifères, par suite vraisemblablement de la non transformation, ou de la transformation insuffisante, des bases azotées en urée.

A vrai dire, la technique qui a été utilisée pour cette étude peut être critiquée. Appliquée au sang des vertébrés (Lapin), j'ai trouvé, en effet, une quantité d'azote volatil titrable au formol (9,8 mgr. environ pour 100 ccm.), beaucoup plus forte que la quantité d'azote ammoniacal trouvée par PARNAS dans le sang du même animal. N'ayant pas étudié comparativement les techniques, la raison de ces divergences m'échappe. Il est possible que les chiffres donnés correspondent non seulement à l'ammoniaque préformée, mais encore à la substance inconnue qui se transforme facilement en ammoniaque à la sortie des vaisseaux, que l'on a appelée *ammoniogène*. Quoi qu'il en soit d'ailleurs, il n'en reste pas moins certain que le sang des invertébrés, comme celui des vertébrés, contient des bases azotées volatiles titrables au formol, libres ou très faiblement combinées.

A l'appui de cette conclusion, se groupent les recherches qui ont eu pour but de déterminer le taux de l'azote volatil, dans l'extrait désalbuminé des organes frais. Chez les vertébrés, on sait depuis longtemps que l'ammoniaque se trouve, en petite quantité, et en quantité variable, dans les divers organes, étudiés aussi rapidement que possible après leur prélèvement. Il me suffira de rappeler à ce sujet les travaux classiques de NENCKI, PAVLOW et ZALESKI (1896) de W. HORODYNSKI, S. SALASKIN et J. ZALESKI (1902), d'E. GRAFE (1906), de PICCINI, etc. Comme pour le sang, le taux de l'ammoniaque contenue dans les organes a diminué à mesure que les techniques de dosage se sont perfectionnées ; mais, à ma connaissance, aucun auteur n'a encore démontré l'absence d'ammoniaque dans les organes. D'ailleurs, en admettant même qu'un jour cette démonstration soit faite, le

problème ne ferait que changer d'aspect, la notion d'ammonio-gène, se substituant à celle d'ammoniaque préformée.

Quoi qu'il en soit, voici les principaux faits mis en évidence au cours de nos recherches :

1°) La présence constante, en petite quantité et en quantité variable, d'azote volatil titrable au formol dans les organes et les tissus des invertébrés.

2°) La teneur en ammoniaque plus forte dans l'hépto-pancréas de quelques invertébrés, en particulier dans celui des Crustacés et des Céphalopodes, animaux carnivores qui excrètent beaucoup d'ammoniaque et peu d'urée.

3°) La teneur relativement faible en ammoniaque du foie des Gastéropodes pulmonés, invertébrés qui excrètent peu d'ammoniaque, beaucoup d'urée ou d'acide urique.

Il n'est pas douteux que ces faits sont conformes à la théorie classique, et qu'ils montrent, en outre, que dans la série des invertébrés, la teneur du foie en ammoniaque varie souvent en raison inverse de l'activité uréopoiétique ou uricogénétique.

A un autre point de vue, celui du lieu de formation des corps ammoniacaux, mes recherches démontrent que l'ammonio-génèse est particulièrement intense dans les organes digestifs.

D'une part, en effet, pour 100 gr. d'organe frais, j'ai trouvé en général beaucoup plus d'azote volatil titrable au formol dans l'hépto-pancréas, le foie, et la masse intestinale que dans les autres organes (muscle, organes génitaux) ; et d'autre part les recherches faites sur l'autolyse ont mis en évidence que la libération de bases azotées volatiles est beaucoup plus marquée pour les organes digestifs que pour les autres organes.

A vrai dire, il se forme de l'ammoniaque dans tous les organes soumis à l'autolyse, mais il ne s'en forme beaucoup que dans le foie et l'hépto-pancréas. En outre, il est intéressant de signaler que pendant l'autolyse, l'ammonio-génèse marche de pair avec les phénomènes de protéolyse, de nucléolyse, et d'amino-acidogénèse, phénomènes, qui, eux aussi, se montrent particulièrement intenses dans les mêmes organes,

Il nous reste à examiner les processus chimiques qui interviennent pour la libération des bases azotées volatiles, et à fixer, le cas échéant, leur rôle respectif.

Je n'ai pas étudié spécialement cette question, mais il se dégage toutefois de mes recherches quelques indications.

L'ammoniaque peut provenir de la décomposition de l'urée par hydrolyse suivant la réaction :



Cette hypothèse qui fait intervenir l'action d'une uréase n'est pas à retenir, sauf peut-être dans quelques cas particuliers. Nous avons vu, en effet, que l'urée ne disparaît pas au cours de l'autolyse des organes digestifs ; elle diminue quelquefois, mais la diminution est si faible qu'elle ne saurait expliquer la formation d'ammoniaque. Enfin, chez quelques invertébrés, il n'existe aucun rapport entre l'excrétion de l'ammoniaque et de l'urée, et la présence d'uréase, qui a été recherchée chez quelques invertébrés par PRZYLECKI. Voici quelques données à ce sujet.

TAPLEAU VI

Espèces animales	Liquides contenant les excréta.		Tissus broyés
	N (NH ₃) Rapport o/o	N urée Rapport o/o	Uréase (1)
<i>Helix pomatia</i>	22.2	16.8	43.2
<i>Mytilus edulis</i>	—	—	26.3
<i>Hirudo medicinalis</i>	76.4	3.4	0,0
<i>Lumbricus agricola</i>	40.3	16.3	2.28
<i>Asclacus flaviatilis</i>	39.6	11.2	2.9

(1) D'après PRZYLECKI. Mgr d'NH₃ p. 100 gr. de tissu mis en présence d'urée pendant 24 heures.

Dans le même ordre de faits, rappelons que LÆB et BODANSKY n'ont pas trouvé d'uréase chez les Crustacés à l'exception de la Limule, et que nous avons démontré que chez ces êtres l'ammoniogénèse et l'excrétion ammoniacale sont très marquées.

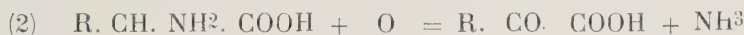
L'ammoniaque peut encore se former par *désamidation*, à partir d'acides amidés (asparagine, glutamine) présents dans la molécule protéique. Il ne semble pas que ce processus joue un rôle important, car, d'après CLEMENTI, l'asparaginase fait défaut chez les invertébrés herbivores (*Pieris brassicæ*, *Helix*) et carnivores (*Hirudo medicinalis*).

La désamination des aminopurines peut expliquer la formation de l'ammoniaque d'après les réactions suivantes :



Il est probable que ce processus intervient, mais seulement dans une faible mesure, car, au cours de l'autolyse des organes digestifs, la dégradation des nucléines est de beaucoup inférieure à celle des protéiques, et que, d'autre part, l'excrétion sous forme de purines en est relativement peu importante.

La majeure partie de l'ammoniaque excrétée, provient certainement de la dégradation des protéiques. Elle se forme principalement, comme chez les vertébrés, dans les organes digestifs, par désamination des acides aminés, soit par hydrolyse (réaction 1) soit par oxydation (réaction 2).



J'ai déjà montré (1910) que chez les vertébrés (Chien) le foie débarrasse l'organisme de l'excès des acides aminés absorbés au cours de la digestion d'un repas de viande et décrit sous le

nom de « Fonction amino-acidolytique du Foie » les diverses phases de la dégradation des acides aminés : désamination et uréopoièse ; combustion ou transformation en glucose et glycogène de l'oxyacide ou de l'acide cétonique libéré après désamination. Plus tard, VAN SLYKE et MEYER ont apporté d'autres preuves du rôle du foie dans la désamination et l'uréopoièse. Ils ont vu que le foie fixe les acides aminés en circulation en plus grande quantité que les autres organes, et que les acides aminés ainsi fixés sont rapidement dégradés avec formation d'urée.

Chez les invertébrés il en est de même, avec cette différence toutefois que, pour beaucoup d'entre eux, l'uréogénèse ne masque pas l'ammoniogénèse.

Chez les invertébrés dépourvus d'organe hépato-pancréatique c'est vraisemblablement dans l'intestin moyen que s'effectue la libération d'ammoniaque, consécutive à la dégradation des acides aminés.

En résumé, les conclusions qui se dégagent de notre étude sont d'accord avec la théorie classique, suivant laquelle l'ammoniaque représente le premier déchet et le déchet principal, qui prend naissance au cours de la dégradation des protéiques. Nos recherches montrent, en outre, que l'ammoniaque se forme en majeure partie dans les organes digestifs (foie, hépato-pancreas, intestin moyen) par désamination des acides aminés.

La variabilité de l'excrétion ammoniacale chez les invertébrés est conditionnée par plusieurs facteurs. Celui qui a été mis en avant par PRZYLECKI, la nature acide ou basique des aliments, n'est pas le seul. Les conditions de la vie des animaux paraissent jouer un rôle important. Les invertébrés marins, bien épurés, excrètent de l'ammoniaque en plus grande quantité que les invertébrés qui peuvent manquer d'eau de circulation. Ceux-ci résistent à l'intoxication ammoniacale en transformant les sels ammoniacaux en urée et en acide urique.

II. — Excrétion d'azote aminé et Amino-acidogénèse.

La présence d'une petite quantité de glycolle dans l'urine humaine a été démontrée en 1905, par G. EMBDEN et H. REESE, à l'aide du réactif β naphtaline sulfonique ; et depuis lors, de nombreux auteurs ont signalé la présence d'acides aminés dans l'urine à l'état normal. A l'aide de la titration au formol, suivant le procédé de SØRENSEN, HENRIQUES a établi le rapport % de l'azote aminé à l'azote total urinaire. Pour l'Homme (alimentation mixte) le rapport ne dépasse pas 2 % ; chez le Chien il varie suivant le mode d'alimentation (0,87 à 3,1 %) ; chez la Chèvre il est d'environ 0.7 %.

L'urine du Lapin ne contient qu'une très petite quantité d'azote aminé (0,2 à 0,6 %) ; mais chez l'animal intoxiqué par le phosphore, l'excrétion d'azote aminé augmente considérablement ; elle peut atteindre 35 %, alors qu'inversement l'excrétion uréique s'abaisse à 40 % (J. DESQUEYROUX).

Très peu de recherches ont été faites à ma connaissance sur l'excrétion de l'azote aminé chez les vertébrés inférieurs. D'après SZALAGYI et KRIWUSCHA, le rapport de l'azote aminé à l'azote total est égal à 2,71 % dans l'urine du Canard, et à 2,52% dans celle de la Poule. Pour les Reptiles et les Poissons, il n'existe aucune donnée. Toutefois, dans l'urine du Poisson lune (*Orthogoriscus*), la présence de cystine a été signalée par RODIER et par BOTAZZI.

En ce qui concerne les invertébrés, je n'ai trouvé aucune indication, si ce n'est la présence, signalée par FÜRTH, dans l'urine du Poulpe, d'un corps acide et azoté de nature inconnue, qui précipite par l'acétate de mercure, comme les acides aminés.

Il ressort de notre étude que l'excrétion d'azote aminé est générale, chez les invertébrés.

Le rapport moyen (calculé d'après nos analyses) de N aminé p. 100 d'N total dans les liquides contenant les excréta, ou dans l'urine, est, en effet, le suivant :

1°) *Entre 20 et 30 %* : Oursin, 28 ; Astérie, 23,8 ; Maja (liquide de la vessie), 20,2 ;

2°) *Entre 15 et 20 %*: Mye, 18 ; Siponcle, 16,6 ; Lombric, 15,8 ;
3°) *Entre 10 et 15 %* : Aplysie, 13 ; Poulpe, 12,5 ; Ecrevisse,
10,1 % ;

4°) *Entre 5 et 10 %* : Crabes, 8,7 ; Seiche (urine), 7,8 ; Escar-
got, 6 ;

5°) *Entre 1 et 5 %* : Sangsue, 3,2 ; Limace, 1,7.

Quelques invertébrés excrètent aussi peu d'azote aminé que les vertébrés, ce sont la Sangsue et la Limace ; mais pour tous les autres l'excrétion est plus forte ; et l'on peut se demander pourquoi il en est ainsi.

Il est possible qu'une partie de l'azote aminé dosé dans les excréta provienne du tube digestif et représente un résidu non absorbé de la protéolyse digestive. Il y a là une cause d'erreur dont il faut tenir compte ; elle ne semble pas, toutefois, bien importante, car l'excrétion d'azote aminé persiste chez les animaux à jeun, et que d'autre part, elle est assez notable chez les invertébrés dont il est possible de recueillir l'urine.

Les acides aminés présents dans les excréta ont vraisemblablement pour origine, dans une large mesure, les acides aminés du sang ou du liquide cavitaires, comme chez les vertébrés. L'excrétion s'est montrée plus forte pour les Echinodermes, dont les émonctoires sont peu différenciés. Il est probable que l'hyperaminoacidurie des invertébrés a pour cause principale l'insuffisance des appareils excréteurs au point de vue de la sécrétion élective des déchets. Une petite partie des acides aminés du sang ou du liquide cavitaires serait entraînée dans le milieu extérieur en même temps que les corps ammoniacaux.

De même que l'ammoniaque, les acides aminés continuent à être excrétés chez l'animal à jeun, et la question se pose de savoir s'il n'existerait pas un centre d'amino-acidogénèse, comme il existe un centre d'ammoniogénèse.

Bien des faits laissent supposer que les organes digestifs jouent, à ce point de vue, un rôle important.

J'ai déjà montré (1913) que les matériaux azotés provenant de la dégradation des aliments sont absorbés et mis en réserve, sous forme d'albumine, dans l'hépto-pancréas et, d'autre part,

nous avons vu qu'au cours de l'autodigestion de cet organe, il y a mise en liberté d'acides aminés en quantité souvent considérable. L'hépatopancreas, organe principal de l'assimilation, est aussi l'organe essentiel de la désassimilation.

Chez les invertébrés qui ne possèdent pas d'hépatopancreas, les acides aminés provenant de la digestion passent dans les liquides du milieu intérieur, où ils sont utilisés pour la formation des produits sexuels, etc. Pour ces êtres, c'est vraisemblablement l'intestin moyen qui fonctionne comme réserve d'albumine et centre d'amino-acidogénèse, en même temps que certains éléments figurés du sang (amibocytes de réserve, d'après CUÉNOT).

En résumé, l'excrétion d'azote aminé est générale chez les invertébrés comme chez les vertébrés, mais, par suite de l'insuffisance de leurs appareils excréteurs, elle est souvent plus forte chez les invertébrés que chez les vertébrés.

III. — Excrétion d'urée et Uréogénèse.

On sait depuis longtemps que le principal déchet azoté contenu dans l'urine des Mammifères est l'urée (FOURCROY et VAUQUELIN, 1798). Dans l'urine de l'Homme et des carnivores, le rapport de l'azote uréique à l'azote total, appelé souvent rapport ou coefficient azoturique, dépasse 80 % ; il est moins élevé chez les herbivores qui éliminent de l'acide hippurique (Vache : 58,1 à 69,4 %).

Chez les vertébrés autres que les Mammifères, le même rapport est beaucoup plus variable.

Les Oiseaux excrètent très peu d'urée par suite de la transformation presque complète de cette substance en acide urique, au fur et à mesure de sa formation. Dans l'urine du Canard, par exemple, le rapport % de N urée est de 4,19 seulement, alors que celui de N acide urique est de 71,9, d'après SZALAGYI et KRIWUSCHA. Les Crocodiliens (*Alligator*) excrètent aussi très peu d'urée. D'après HOPPING, le rapport azoturique est très bas, 3 % environ (1,3 à 6,9), et le rapport de l'azote ammoniacal est très élevé (50 à 85 %). Chez ces êtres, ce n'est pas la transformation de l'urée en acide urique qui explique l'excrétion faible d'urée,

mais la non transformation en urée des sels ammoniacaux précurseurs de l'urée.

Entre ces deux types extrêmes, se place la Tortue (*Chelone mydas*) dont l'excrétion affecte le type suivant d'après LEWIS : N urée, 45,1 ; N (N H³) : 17,7 ; N acide urique, 19,1.

Chez les invertébrés, l'excrétion d'urée est générale. A ce point de vue, mes recherches confirment celles de SANZO et de FOSSE, qui ont mis hors de doute la présence constante d'urée dans l'organisme des invertébrés. J'ai eu l'occasion de rechercher l'urée dans l'extrait d'une Eponge et dans l'extrait des filaments d'Actinies, le résultat a été positif.

Pour les invertébrés comme pour les vertébrés inférieurs, le rapport de l'azote de l'urée à l'azote total des excréta est variable ; il peut atteindre 80 %, mais le plus souvent il est assez faible. Voici, par ordre de grandeur, le chiffre moyen de ce rapport % d'après nos analyses :

Limace : 70,8 ; Escargot alimenté : 22 ; à jeun : 16,8 ; Lombric : 16,5 ; Astérie : 11,7 ; Ecrevisse : 11,2 ; Siponcle : 9,7 ; Aplysie : 8,7 ; Oursin : 7,5 ; Sangsue : 5,4 ; Maja : 5,2 ; Mye : 4,5 ; Crabe : 2,9 ; Seiche : 1,7.

D'une façon très générale, on peut dire que les invertébrés marins excrètent peu d'urée. Comme d'autre part, ainsi que nous l'avons déjà vu, leur excrétion ammoniacale est forte, l'excrétion faible d'urée peut s'expliquer dans une large mesure par la transformation incomplète en urée des sels ammoniacaux.

A vrai dire, cette hypothèse mérite d'être discutée. Il est possible, en effet, que l'urée excrétée ait pour origine le dédoublement par hydrolyse de l'arginine en ornithine et urée, sous l'action de la diastase découverte par KOSSEL et DAKIN : l'arginase.

Je n'ai pas fait de recherches dans cette direction, mais celles qui ont été déjà publiées laissent supposer que le dédoublement de l'arginine ne joue aucun rôle, ou ne joue qu'un rôle insignifiant, dans la formation de l'urée chez les invertébrés.

CLEMENTI n'a pas trouvé d'arginase dans l'hépatopancréas d'*Astacus* ; il a signalé seulement la présence de cette diastase dans le foie d'*Helix*. D'après HUNTER et DAUPHINÉE, la réaction de l'arginase est complètement négative pour les cœcums des Astéries (*Pisaster ochracea*), l'hépatopancréas du Crabe (*Cancer productus*), et les glandes digestives de *Saxidomus giganteus*. Ces auteurs concluent que l'arginase est très rare dans le règne des invertébrés, qu'elle se trouve surtout, sinon exclusivement, chez les vertébrés et qu'on peut s'expliquer ainsi pourquoi l'arginine a été souvent signalée dans les matières extractives des invertébrés (ACKERMANN, OKUDA).

Nos recherches sur la formation d'urée au cours de l'autodigestion de l'hépatopancréas arrivent à une conclusion analogue par une autre voie. L'uréogénèse, en effet, a été nulle ou très faible pour presque tous les invertébrés étudiés (Asterie, Maja, Ecrevisse, Poulpe, Aplysie). Je n'ai constaté une forte plus value de l'urée qu'au cours de l'autolyse du foie des Seiches, animaux qui excrètent très peu d'urée.

L'hypothèse, suivant laquelle la faible excrétion uréique des invertébrés marins aurait pour cause principale la transformation incomplète en urée des corps ammoniacaux paraît donc acceptable, en l'état actuel de nos connaissances, et l'on peut se demander pourquoi il en est ainsi.

S'agit-il d'une insuffisance dans les oxydations ?

On a admis tout d'abord que l'urée est un produit de combustion des matières azotées. Cette théorie émise en 1842 par DUMAS et CAHOURS fut abandonnée pour celle de la déshydratation (SCHMIEDEBERG, 1879 ; DRECHSEL, 1881), suivant laquelle l'urée se formerait à partir du carbonate ou du carbonate d'ammoniaque. La théorie de la déshydratation longtemps classique, est actuellement discutée, et celle de la production d'urée par oxydation est revenue à l'ordre du jour. HOFMEISTER (1896) a obtenu de l'urée *in vitro* par oxydation des acides monoaminés en présence d'ammoniaque, et FOSSE a montré que l'urée prend naissance, en présence d'ammoniaque, par oxydation non seulement des acides aminés, mais aussi du glucose et des hydrates

de carbone, de la glycérine, etc., et que le corps qui engendre l'urée est l'acide cyanique, suivant la réaction



Il ne semble exister chez les invertébrés aucun rapport entre l'uréogénèse et les oxydations. Chez les invertébrés les plus actifs et les mieux organisés, les Céphalopodes, l'excrétion uréique est aussi faible que chez les Echinodermes, par exemple. Il est vrai que l'excrétion uréique et l'uréogénèse se sont montrées plus intenses chez les invertébrés terrestres que chez les invertébrés marins. Le fait pourrait être interprété en faveur de la théorie de la formation d'urée par oxydation, mais on peut admettre avec autant de raison que l'urée s'est formée par déshydratation. Seule, la recherche des termes intermédiaires, en particulier de l'acide cyanique, sera capable de préciser le mécanisme intime de l'uréogénèse.

Quoi qu'il soit, d'ailleurs, que l'urée se forme par oxydation ou par déshydratation, la signification de l'uréogénèse chez les invertébrés n'en reste pas moins claire. Elle n'est importante que chez les êtres dont l'épuration du milieu intérieur est difficile et intermittente ; elle peut donc être considérée comme un mécanisme de défense contre les corps ammoniacaux, déchets initiaux du métabolisme des protéiques.

Une autre question se pose maintenant : est-il possible de déterminer chez les invertébrés comme chez les vertébrés le lieu de formation de l'urée ?

La fonction uréopoiétique du foie des vertébrés est actuellement bien établie. Elle est basée sur les faits suivants : 1° Diminution dans l'urine du rapport de l'azote de l'urée à l'azote total, après exclusion du foie (NENCKI et ses collaborateurs), après ligature de l'artère hépatique (DOYON et DUFOUT), dans l'intoxication phosphorée ; 2° Formation d'urée dans le foie isolé, lorsque l'organe est perfusé avec du sang oxygéné, contenant des sels ammoniacaux (SCHRÖEDER) et des acides aminés (SALASKIN).

En 1914, FOLIN et ses élèves FISKE et SUMMER ont mis en doute

le rôle prépondérant du foie dans la formation d'urée à partir des acides aminés; mais JANSEN (1915) répétant leurs expériences, a montré qu'à condition de bien artérialiser le sang, l'uréogénèse est facile et rapide.

L'importance du rôle du foie comme organe de désamination et d'uréogénèse est encore bien démontrée par les recherches de DESQUEYROUX, qui a signalé que chez le Lapin intoxiqué par le phosphore, le rapport azoturique peut s'abaisser jusqu'à 40%, alors que le rapport de l'azote aminé à l'azote total, très faible normalement (0,3 %), s'élevait à 35 %.

Il ne semble pas, d'autre part, que chez les vertébrés l'urée se forme en quantité notable en dehors du foie. A vrai dire, TAYLOR et LEWIS (1915) ont admis que toutes les cellules seraient capables de former de l'urée, mais les récentes recherches de BOLLMANN, MANN et MAGATH (1924) laissent peu de place à l'uréogénèse extrahépatique.

Grâce à une technique appropriée (exclusion du foie en trois temps), BOLLMANN et ses collaborateurs ont pu maintenir en vie, pendant trente heures, des Chiens auxquels ils avaient enlevé totalement le foie ; ils ont alors constaté que la teneur en acides aminés du sang augmente, que le taux de l'urée excrétée correspond à la perte en urée du sang et des tissus, et ont conclu que la formation d'urée dépend entièrement de la présence du foie.

En ce qui concerne les invertébrés, SANZO est, à ma connaissance, le seul auteur qui ait émis une opinion sur le lieu de formation de l'urée. Ayant trouvé plus d'urée dans le foie que dans le muscle chez quelques invertébrés (Céphalopodes, Crustacés) il estime que l'urée se forme dans le foie comme chez les vertébrés.

Mes recherches confirment celles de SANZO, pour ce qui est de la surcharge en urée de l'hépatopancréas chez beaucoup d'invertébrés ; mais elles montrent, en outre, que l'uréogénèse s'effectue aussi chez les invertébrés, qui ne possèdent pas d'hépatopancréas.

Nous avons vu, par exemple, que les Oursins et les Vers excrètent de l'urée et signalé la surcharge en urée des hématies du Siponcle. Ces faits permettent de supposer que l'uréogénèse est

plus diffuse chez les invertébrés que chez les vertébrés, et indiquent la nécessité de nouvelles recherches.

IV. — Excrétion et formation de l'acide urique.

Mes recherches étaient déjà très avancées, lorsqu'a paru (1926) le travail de PRZYLECKI sur la répartition et la dégradation de l'acide urique chez les invertébrés. Il a déterminé l'acide urique d'après la méthode de FOLIN ou de KRÜGER, et dans certains cas, à l'aide de la réaction de la murexide, alors que j'ai utilisé la méthode colorimétrique de MORRIS et MACLEOD.

Sur beaucoup de points les résultats sont concordants. C'est ainsi que PRZYLECKI a trouvé de l'acide urique en très petite quantité dans les excréta et les tissus broyés de l'animal entier, chez les Echinides et les Astérides, qu'il n'en a pas trouvé dans les tissus d'*Hirudo* et dans l'eau où avaient séjourné les animaux, dans les tissus des Lamellibranches (*Anodonta* et *Mya*), et qu'il a signalé que les Gastéropodes (*Helix*, *Aplysia*) et les Céphalopodes (*Sepia*, *Octopus*) renferment et excrètent en abondance l'acide urique.

Par contre, en ce qui concerne les Crustacés, les résultats ne concordent pas. J'ai toujours trouvé, en effet, de l'acide urique dans les excréta, le sang et l'hépatopancréas de ces invertébrés, alors que, d'après PRZYLECKI : « *Astacus fluviatilis*, *Maja*, et le *Platicarcinus pagurus* n'excrètent ni ne renferment d'acide urique. Ils renferment, par contre, beaucoup de xanthine ». En outre, j'ai obtenu avec le réactif arséno-tungstique, une coloration bleue, nette, avec l'extrait de filaments d'Actinies et avec un extrait d'Eponge, ce qui laisse supposer que, contrairement à l'opinion de PRZYLECKI, l'acide urique ne manque pas chez les Cœlentérés.

Voici, calculé d'après mes analyses, et classé par ordre de grandeur, le chiffre moyen du rapport % de l'N (acide urique) à l'N total dans les liquides contenant les excréta :

Escargot : 10,7 ; Limace : 6,9 ; Aplysie : 4,6 ; Maja : 2,7 ; Seiche : 2,1 ; Poulpe : 1,4 ; Oursin : 1 ; Ecrevisse : 0,8 ; Crabe : 0,7 ; Astérie et Mye : traces ; Siponcle, Sangsue, Lombric : néant.

Les animaux qui excrètent le plus d'acide urique sont les Gastéropodes pulmonés. Leur excrétion est d'ailleurs plus forte en réalité que ne l'indique le chiffre donné plus haut, car l'acide urique, par suite de son peu de solubilité et de son excrétion intermittente, n'a certainement pas été recueilli en totalité.

Les invertébrés marins excrètent peu d'acide urique, même ceux dont le foie en renferme une quantité importante (*Aplysia*, *Maja*).

Fait curieux, il semble que l'on puisse de même diviser les vertébrés inférieurs en deux groupes : les animaux aquatiques qui excrètent peu d'acide urique, et les animaux terrestres qui en excrètent beaucoup.

L'excrétion d'acide urique est insignifiante chez les Poissons ; d'après W. DENIS, elle est seulement de 9,1 % dans l'urine de *Lophius* et de 0,25 % pour celle de *Galeus canis* ; le sang des Sélaciens ne contient pas d'acide urique et celui des Téléostéens n'en contient que des traces. Chez les Amphibiens, l'excrétion d'acide urique est également très faible (PRZYLECKI). Elle s'élève chez les Crocodiliens (*Alligator*, 7 à 20 % d'après HOPPING), chez la Tortue (14,0 et 19,1 % d'après LEWIS) et devient considérable chez les Reptiles et chez les Oiseaux (70 à 80 %).

On peut se demander dans ces conditions si, au point de vue biologique, la formation d'acide urique ne serait pas conditionnée par le même facteur que celui qui intervient pour la formation d'urée, par l'insuffisance d'eau de circulation. Il n'est pas douteux que l'excrétion de l'urée et des corps ammoniacaux est sous la dépendance d'une diurèse constante et active, alors que l'excrétion d'acide urique peut s'effectuer avec peu de liquide et même sans liquide, chez *Helix* par exemple, par suite du fonctionnement de l'organe de Bojanus comme rein d'accumulation.

D'après cette hypothèse, qui présente l'avantage de grouper des observations isolées et en apparence sans aucun rapport, l'uricogénèse par synthèse ne serait somme toute qu'un processus de défense contre l'intoxication par les déchets solubles (ammoniaque et urée), qui tendent à s'accumuler dans l'organisme, chaque fois que la diurèse est insuffisante.

L'acide urique excrété a pour origine immédiate l'acide urique contenu dans le sang ou le liquide cavitaires. Nos recherches sur la présence de l'acide urique dans les liquides du milieu intérieur ont montré, en effet, que ces liquides contiennent en petite quantité de l'acide urique; chez tous les invertébrés qui excrètent ce déchet.

Voici, calculé d'après nos analyses, le chiffre moyen, en mgr., de l'azote appartenant à l'acide urique pour 100 ccm. de sang ou de liquide cavitaires :

Echinodermes : Astérie, 0,03 ; Oursin, 0,07.

Vers : Aphrodite, 0,05 ; Siponcle, 0,00.

Crustacés : Maja, 0,21 ; Ecrevisse, 0,40 ; Crabe, 0,40.

Lamellibranches : Mye, 0,12 ; Huître, 0,01.

Céphalopodes : Seiche, 0,25 ; Poulpe, traces.

Gastéropodes : Aplysie, 0,10 ; Escargot, 0,34.

Vertébrés : Poule, 2,30 ; Homme, 0,70.

Comme pour l'ammoniaque et l'urée, les organes digestifs paraissent être le principal lieu de formation de l'acide urique. Au cours de notre étude, nous avons souvent signalé que la coloration bleue, qui prend naissance dans les extraits désalbuminés des organes après addition du réactif arsénio-tungstique est, toutes choses égales, plus intense pour l'hépatopancréas, le foie et l'intestin moyen que pour les autres organes : muscle, organes génitaux, etc., et montré que l'hépatopancréas de l'Aplysie et de la *Maja* contient beaucoup d'acide urique, fait déjà signalé par SULIMA.

Il ne semble pas, d'autre part, que l'acide urique soit un déchet provenant de l'activité musculaire, car le muscle n'en contient pas, ou n'en contient que des traces, chez les Céphalopodes, les Crustacés, etc.

Les recherches que j'ai faites sur la teneur en acide urique des amibocytes (Astérie, Siponcle) ont donné des résultats négatifs, de telle sorte qu'il est difficile d'accepter pour les invertébrés la théorie qui a été soutenue par HORBACZEWSKI (1889), suivant laquelle l'acide urique aurait pour origine, chez les vertébrés, la dégradation des noyaux des leucocytes.

En ce qui concerne la nature des réactions chimiques qui donnent naissance à l'acide urique, on se trouve en présence de deux processus, dont il est difficile de fixer l'importance relative : 1° La formation de l'acide urique par synthèse aux dépens des produits de dégradation des protéiques comme dans le foie des Oiseaux ; 2° La formation d'acide urique par oxydation des bases puriques comme chez les Mammifères.

D'après PRZYLECKI, les diastases oxydant les purines manquent chez beaucoup d'invertébrés (Eponge, Sangsue, Anodonte, Ecrevisse, Maja, Aplysie); elles sont présentes seulement chez les Echinides, les Céphalopodes, et quelques Gastéropodes (*Helix*).

La formation d'acide urique dans le foie, à partir de corps acycliques (acides aminés, urée et malonate de soude, etc.) au cours de l'autodigestion a été signalée tout d'abord par SULIMA pour l'Aplysie et la *Maja*, puis par PRZYLECKI pour *Helix*, *Octopus* et *Aplysia*. Les recherches de ces deux auteurs ne concordent pas sur certains points. C'est ainsi, que d'après SULIMA, le foie des Céphalopodes (*Octopus*) est incapable de former de l'acide urique par oxydation ou par synthèse, alors que d'après PRZYLECKI, l'acide urique se forme facilement dans cet organe par les deux processus.

Au cours de l'autodigestion de l'hépto-pancréas, j'ai constaté la formation d'une petite quantité d'acide urique chez les Céphalopodes (Seiche, Poulpe), les Gastéropodes (Aplysie, Escargot) et aussi chez la *Maja*. L'autolyse s'étant effectuée en présence de toluol, c'est-à-dire à l'abri de l'air, il est probable que l'acide urique s'est formé par synthèse.

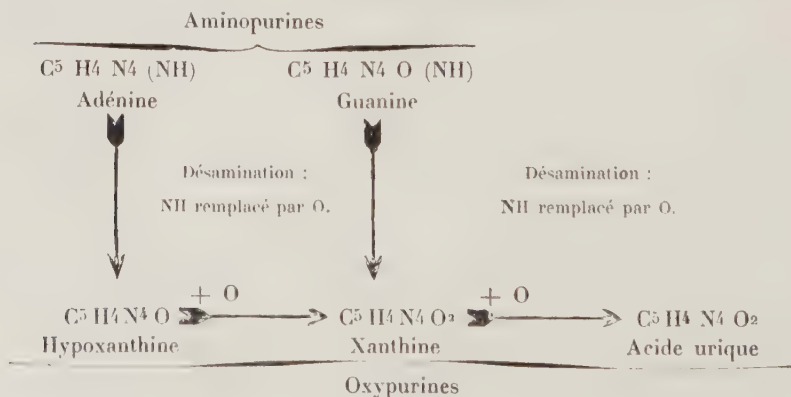
- Il est évident que de nouvelles recherches sont nécessaires pour préciser le mécanisme de l'uricogénèse chez les invertébrés. Toutefois, il semble bien que le processus mis en œuvre pour la formation de l'acide urique dans le foie des Oiseaux, par synthèse aux dépens des produits de dégradation des protéiques, soit plus général et plus important chez les invertébrés que l'autre processus, par oxydation des bases puriques.

Les voies d'excrétion de l'acide urique chez les invertébrés

ne sont pas toujours faciles à déterminer. Chez les Gastéropodes pulmonés, l'accumulation d'acide urique dans l'organe de Bojanus, démontre bien l'importance de cet organe dans l'élimination. Chez les Céphalopodes, il n'en est pas de même, car on trouve peu d'acide urique dans l'extrait des corps fungiformes ; toutefois, la présence d'acide urique dans l'urine et l'abondance des concrétions uriques dans les sacs rénaux indiquent l'importance de cette voie d'élimination. Chez les Crustacés, BURIAN a admis que l'acide urique s'élimine par l'intestin ; nous avons montré qu'une partie au moins de l'acide urique excrété est évacuée par les glandes antennaires. Chez les Echinodermes il n'est guère possible de préciser le lieu d'élimination, sauf peut-être chez l'Oursin dont l'intestin terminal contient de l'acide urique en quantité notable.

V. — Excrétion et formation des Bases Puriques.

Les principales bases puriques se divisent, comme on sait, en deux groupes : 1° Les aminopurines : adénine et guanine ; 2° Les oxypurines : hypoxanthine, xanthine et acide urique. Les acides nucléiques provenant de la dégradation des nucléo-protéides des tissus animaux, ou d'origine alimentaire, sont décomposés par des diastases, les *nucléases*, avec mise en liberté d'aminopurines. Celles-ci, sous l'action de diastases désaminantes et oxydantes, sont finalement transformées en acide urique chez les vertébrés. Voici un schéma emprunté à LAMBLING, qui montre clairement la nature et la suite de ces transformations :



Chez quelques Mammifères (Homme, Chimpanzé, Chien de race Dalmatienne), l'acide urique ainsi formé est excrété, il représente le produit terminal du métabolisme des purines d'après de nombreux auteurs (WIECHOWSKI, SIVEN, etc.). Chez le Chien, le Chat, le Lapin, etc., l'acide urique n'apparaît dans l'urine qu'en très petite quantité (WIECHOWSKI), car il est transformé en allantoine sous l'action d'une diastase oxydante spéciale, l'*uricase*, que l'on trouve surtout dans le foie. Indiquons enfin que PRZYLECKI a signalé récemment que chez les Amphibiens la dégradation va encore plus loin, l'allantoine étant décomposée en ammoniacque et urée, sous l'action d'une diastase : l'*allantoïnase*.

Il ne semble pas que chez les invertébrés la dégradation des nucléoprotéides soit aussi profonde. Mes recherches, ainsi que celles de PRZYLECKI, laissent supposer, en effet, que l'excrétion de bases puriques non oxydées (adénine, guanine) ou faiblement oxydées (hypoxanthine, xanthine), excrétion qui n'existe pas ou est très faible chez les vertébrés, est importante chez les invertébrés.

PRZYLECKI a signalé, en effet, l'absence de purine-oxydases chez beaucoup d'invertébrés (Eponge, Sangsue, Anodonte, Ecrevisse, Maja, Aplysie). Chez les invertébrés dont les tissus sont capables d'oxyder les purines, les purines-oxydases ne paraissent pas très actives. Je n'ai trouvé, en effet, dans les liquides contenant les excréta que des traces d'acide urique chez les Echinodermes (Astérie, Oursin) ; chez le Poulpe, l'excrétion de purines est beaucoup plus forte que l'excrétion d'acide urique ; chez *Helix* l'acide urique est excrété en quantité importante, mais il se forme vraisemblablement par synthèse, comme chez les Oiseaux, car on trouve en abondance des bases puriques dans l'extrait de l'organe de Bojanus et dans les excréta.

A vrai dire, de nouvelles recherches sont nécessaires pour conclure définitivement sur cette importante question. En particulier, il serait utile d'isoler et d'identifier les bases puriques dans les excréta, ce qu'il ne m'a été possible de faire, vu l'étendue et les difficultés de mes recherches. Toutefois, il est intéressant de signaler que l'idée d'une excrétion importante de bases puriques chez les invertébrés, s'accorde bien avec les obser-

vations histo-chimiques des auteurs, qui ont souvent signalé, chez les invertébrés, l'encombrement des cellules des néphridies et des excrétophores par les granulations puriques.

L'accumulation de ces granulations est si marquée chez quelques espèces, chez les Annelides par exemple, que BURIAN a pu croire que, chez ces êtres, elles pouvaient avoir pour origine la transformation par synthèse des produits de dégradation des protéiques. Cette hypothèse ne nous a pas paru exacte, car, chez tous les invertébrés en général, et chez les Vers en particulier, l'azote éliminé sous forme de purines, ne prend qu'une part relativement faible de l'azote total excrété.

Voici le chiffre moyen, calculé d'après nos analyses, de l'azote des bases puriques (N purique total — N acide urique) pour 100 d'azote total, dans les liquides contenant les excreta :

Echinodermes : Astérie, 6,8 ; Oursin, 10,0.

Vers : Lombric, 9,3 ; Siponcle, 4,1 ; Sangsue, 3,6.

Crustacés : Maja, 3,5 ; Ecrevisse, 3,7 ; Crabe, 2,3.

Lamellibranches : Mye, 5,0.

Céphalopodes : Seiche, 1,9 ; Poulpe, 23,6.

Gastéropodes : Aplysie, 9,3 ; Escargot, 5,8 ; Limace, 5,9

Il nous resterait à examiner maintenant où et comment se forment les bases puriques dans l'organisme des invertébrés.

Je n'ai pas étudié cette question, mais une indication intéressante se dégage de mes recherches : la présence constante d'une nucléase dans les organes digestifs des invertébrés, bien mise en évidence par l'augmentation souvent considérable de l'azote purique au cours de l'autodigestion de l'hépatopancréas. Quelques recherches faites comparativement avec d'autres organes m'ont montré, en outre, que si la dégradation des nucléoprotéides est générale, elle est beaucoup plus intense dans les organes de la digestion. Il est donc probable que les bases puriques excrétées se forment en grande partie au cours de l'activité des glandes digestives, ainsi que l'a d'ailleurs admis MARÈS pour les vertébrés.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nos recherches ont eu pour objet de préciser nos connaissances sur la nature, l'origine et l'importance quantitative des déchets azotés excrétés par les invertébrés. Nous nous sommes surtout préoccupé de répondre aux questions suivantes :

1° Dans quelle mesure retrouve-t-on parmi les excréta des invertébrés, les principaux déchets azotés contenus dans l'urine des vertébrés (urée, ammoniacque, azote aminé, acide urique et azote purique) ?

2° Dans quelle mesure les données qui paraissent acquises pour les vertébrés sur l'origine et le mécanisme chimique de formation de ces déchets sont-elles exactes pour les invertébrés ?

Dans ce but, nous avons étudié comparativement chez un grand nombre d'invertébrés la répartition de l'azote non protéique : 1° dans les liquides contenant les excréta et dans l'urine ; 2° dans le sang et le liquide cavitairé ; 3° dans les extraits d'organes (hépatopancréas, muscle, organes génitaux, néphridies) ; 4° dans les organes digestifs, avant et après autolyse.

La technique utilisée pour la récolte des excréta ainsi que pour les dosages chimiques a été décrite au chapitre II. Nous avons mis au point une technique chimique précise adaptée à nos recherches. En modifiant les techniques microchimiques utilisées pour l'étude de l'N non protéique du sang, il nous a été possible de doser l'azote de tous les déchets par la titration au formol, à l'exception de l'acide urique, qui a été déterminé à l'aide du réactif arsénio-tungstique suivant le procédé de MORRIS et MACLEOD.

Les résultats des analyses ont été exposés dans le chapitre III,

ainsi que les résultats de nos devanciers. Le chapitre IV comprend une étude comparative et générale sur l'excrétion azotée et un essai d'interprétation sur les causes de la variabilité de l'excrétion des déchets, sur leur origine et leurs processus de formation.

Les conclusions, découlant des faits, ou de considérations critiques, ont été dégagées au fur et à mesure, de telle sorte qu'il nous suffira maintenant de donner une idée des acquisitions principales.

Chez les invertébrés comme chez les vertébrés, la majeure partie des déchets azotés provient de la dégradation des protéiques ; une petite partie seulement a pour origine la dégradation des nucléo-protéides.

Alors que chez les vertébrés les bases puriques provenant du métabolisme des nucléines ne sont excrétées qu'après avoir été oxydées et transformées en acide urique et en allantoiné, chez les invertébrés l'excrétion de bases puriques est importante et générale.

Les bases puriques sont mises en liberté en quantité notable au cours de l'autolyse de l'hépatopancréas, ce qui laisse supposer qu'elles se forment en partie au cours des processus digestifs.

La dégradation des protéiques s'effectue par l'intermédiaire des acides aminés, dont la présence est constante dans le sang et au sein des organes.

Par suite de l'insuffisance des émonctoires, l'excrétion d'azote aminé est souvent plus forte chez les invertébrés que chez les vertébrés.

Le déchet provenant de l'amino-acidolyse est l'ammoniaque, qui représente chez beaucoup d'invertébrés marins le déchet principal.

L'excrétion d'azote uréique est générale chez les invertébrés, ainsi que l'ont déjà montré SANZO et FOSSE, mais elle est très variable.

Un type d'excrétion très fréquent chez les invertébrés marins est le suivant : excrétion ammoniacale forte, excrétion uréique faible. Il paraît conditionné dans une large mesure par la rapidité de l'élimination des corps ammoniacaux chez les êtres qui vivent dans l'eau.

Le type inverse d'excrétion, caractérisé par une forte excrétion uréique, associée à une faible excrétion ammoniacale est rare chez les invertébrés ; il n'a été observé que chez les Gastéropodes pulmonés (Limace), c'est-à-dire chez des êtres adaptés à la vie aérienne, qui peuvent dans certaines circonstances, manquer d'eau de circulation.

Ces faits nous ont paru assez suggestifs pour tenter un essai d'interprétation sur la signification de l'uréogénèse chez les invertébrés. La formation d'urée jouerait chez ces êtres, comme chez les vertébrés, un rôle important dans la lutte contre l'intoxication par les corps ammoniacaux, déchets initiaux du métabolisme des protéiques.

Nous basant sur la forte teneur en ammoniacque des organes digestifs de beaucoup d'invertébrés, ainsi que sur l'intensité de la mise en liberté d'ammoniacque et d'acides aminés au cours de l'autolyse antiseptique de ces organes, nous avons admis qu'ils représentent le principal lieu de formation des corps ammoniacaux et qu'ils jouent un rôle important comme organes de désamination et d'amino-acidogénèse.

L'uréogénèse chez les invertébrés s'effectue principalement à partir de l'ammoniacque et des acides aminés.

L'excrétion d'acide urique n'est pas générale chez les invertébrés. Sur beaucoup de points, nos observations concordent avec celles de SULIMA et de PRZYLECKI, pour ne citer que les auteurs les plus récents. L'acide urique manque chez beaucoup de Vers et ne se trouve qu'à l'état de traces chez les Lamellibran-

ches; il est présent dans les excréta et le sang des Echinodermes, des Crustacés, des Céphalopodes, des Gastéropodes; mais, à l'exception des Gastéropodes pulmonés (*Helix*), il n'est excrété qu'en très petite quantité. Il se forme principalement dans les organes digestifs, dont la teneur en acide urique est le plus souvent supérieure à celle des autres organes.

Chez *Helix*, la forte excrétion d'acide urique, sa formation par synthèse dans le foie, son accumulation dans l'organe de Bojanus, laissent supposer que l'uricogénèse est conditionnée par le manque d'eau de circulation, et qu'elle représente un processus de défense contre l'accumulation des déchets élémentaires du métabolisme, ammoniacque et urée, dans les liquides du milieu intérieur et dans l'organisme.

En résumé, les invertébrés excrètent les mêmes déchets azotés que les vertébrés, et les processus chimiques élémentaires qui président à la dégradation des protéiques et des nucléo-protéides sont identiques dans toute la série animale.

Chez les invertébrés, comme chez les vertébrés, la répartition de l'azote total entre les divers déchets azotés varie suivant les espèces.

Parmi les causes qui interviennent pour modifier la répartition des déchets azotés, il en est une qui nous a paru très importante : l'épuration plus ou moins facile des liquides du milieu intérieur. L'excrétion la plus simple, c'est-à-dire l'excrétion des déchets azotés initiaux (ammoniacque et bases puriques), s'observe chez les invertébrés aquatiques, alors que l'excrétion des invertébrés adaptés à la vie aérienne se rapproche beaucoup de celle des vertébrés.

BIBLIOGRAPHIE

- ABELOOS, M. — *Sur les processus histo-physiologiques de l'excrétion chez les Hirudinées Rhynchobelles et sur la signification physiologique de certaines cellules de leur tissu conjonctif*, C. R. Soc. Biol., t. 90, 1924.
- ACKERMANN, D. et KUTSCHER, E. — *Über die extraktstoffe von Lumbricus terrestris*, Zeitch. f. Biol., t. 75, 1922.
- ACKERMANN, HOLTZ et KUTSCHER. — *Über die extraktstoffe von Eleodone moschata*, Zeitch. f. Biol., t. 77, 1922 et t. 80, 1924.
- ALBRECHT, G. — *Chemical study of several marine Mollusks of the Pacific Coast*, Journal Biolog. Chemistry, t. 57, 1923.
- BAYLAC, J. — *Composition chimique et toxicité des liquides d'Huitres*, C. R. Soc. Biol., t. 62, 1907.
- BERT, Paul. — *Mémoire sur la physiologie de la Seiche*. Mem. de la Soc. des Sc. physiques et naturelles de Bordeaux, t. 5, 1867.
- BLISS, S. — *Site of Ammonia formation and the prominent rôle of vomiting in Ammonia elimination* Journ. Biol. Chem., t. 67, 1926.
- BIALASZEWICZ, K. — *Etudes comparées sur le métabolisme chimique et énergétique*. Trav. Soc. d. Sc. de Varsovie, N° 32, 1919.
- BIAL, M. — *Ein beiträg zur Physiologie der Niere*, Pflügers Arch. ges. Physiol., t. 47, 1890.
- BOLLMANN, J. L., MANN F. C. et MAGATH T. B. — *Effect of total removal of the liver on the formation of urea*, Amer J. Physiol., t. 69, 1924.
- BORDAS, L. — *Etude sur l'anatomie et les fonctions physiologiques des poumons aquatiques des Holothurics*, Ann. du Mus. d'Hist. nat. de Marseille, t. 5, 1899.
- BORTOLOTTI, C. — *Sulla funzione delle cellule cloragogene nei generi Lumbricus ed Allolobophora*, Atti della R. Accad. dei Lincei, Serie 5, t. 11, 1902.
- BOTAZZI, F. — *Recherches sur la glande salivaire postérieure des Céphalopodes*. Cong. Phys. Paris, 1920.
- BRUNTZ, L. — *Etudes sur les organes lymphoïdes phagocytaires*

- et excréteurs des Crustacés supérieurs*, Arch. Zool. experim. et gén., 4^{me} Série, t. 7, 1907.
- BURIAN, R. — *Die Excretion : Protozoen, Colenteren, Echinodermen, Würmer*, Handbuch der vergleichenden Physiologie v. Hans Winsterstein, t. 2, Stoffwechsel, 2^{me} partie, 1924, G. Fischer, Jena.
- BURIAN R. et MUTH A. — *Die Excretion : Crustaceen*, Ibid.
- CATHCART, E. P. — *The Physiology of Protein Metabolism*, Monograph on biochemistry, Longmans, Green and Co, London, 1921.
- CLEMENTI, A. — *Sulla diffusione nell'organismo e nel regno dei vertebrati e sulla importanza fisiologica dell'arginasi*, Archiv. Fisiolog., t. 23, 1914.
- *La désamidation enzymatique de l'Asparagine chez les différentes espèces animales et la signification physiologique de sa présence dans l'organisme*, Arch. int. Physiol. t. 19, 1922.
- COHNHEIM, O. — *Versuche über Resorption, Verdauung und Stoffwechsel von Echinodermen*, Zeitschr. f. physiol. Chem., t. 33, 1901.
- CUÉNOT, L. — *Etudes physiologiques sur les Astéries*, Arch. d. Zool. expér. et gén., 3^{me} Série, t. 9, 1901.
- *Contributions à la faune du bassin d'Arcachon, Echinodermes*, Bull. Stat. Biol. Arcachon, t. 14, 1911-1912.
- *Etudes physiologiques sur les Oligochètes*, Arch. de Biol., t. 15, 1898.
- *Excrétion et Phagocytose chez les Sipunculien*, C. R. Soc. Biol., t. 74, 1913.
- *Etudes physiologiques sur les Crustacés décapodes*, Arch. de Biol., t. 13, 1894.
- *L'excrétion chez les Mollusques*, Arch. de Biol., t. 16, 1900.
- *Fonctions absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes*, Arch., Zool. exp. et gén., Série 4, t. 7, 1907.
- CUÉNOT, GONET et BRUNTZ. — *Recherches chimiques sur les cœurs branchiaux des Céphalopodes*, Arch. Zool. exp. et gén., 4^{me} Série, t. 9, Notes, p. 49-53.
- COUVREUR, E. — *Note sur le sang de l'Escargot*, C. R. Soc. Biol., t. 52, 1900.
- DAMBOVICEANU, A. — *Détermination de certains constituants du plasma de Sipunculus nudus au cours de l'immunisation*, C. R. Soc. Biol., t. 95, 1926.
- DARBOUX, G. — *Recherches sur les Aphroditien*, Trav. de l'Inst. de Zool. de Montpellier, Sér. 2, Mém. 6, 1899.
- DELAUNAY, H. — *Contribution à l'étude du rôle des acides aminés dans l'organisme animal*, Thèse Médecine Bordeaux, 1909-1910.

- *Recherches sur les échanges azotés des invertébrés*, Archiv. int. Phys., t. 13, 1913.
- *Sur l'azote restant du sang et du liquide cavitairé de quelques invertébrés. Ses rapports avec l'azote protéique*, C. R. Soc. Biol., t. 73, 1912.
- *Sur la répartition de l'azote restant du sang et du liquide cavitairé de quelques invertébrés*, C. R. Soc. Biol., t. 74, 1913.
- *Sur quelques faits particuliers à la répartition de l'azote dans le liquide cavitairé des Vers (Aphrödite aculeata, Sipunculus nudus)*, C. R. Soc. Biol., t. 74, 1913.
- *Sur l'excrétion azotée des Astéries (Asterias rubens)*, C. R. Soc. Biol., t. 94, 1926.
- *Sur l'excrétion azotée des Gastéropodes pulmonés*, C. R. Soc. Biol., t. 93, 1926.
- *Sur l'excrétion azotée de la Seiche*. Ibid.
- *Sur l'excrétion azotée des Vers. La surcharge en urée des hématies du Siponcle*, C. R. Soc. Biol., t. 95, 1926.
- DENIS, W. — *Metabolism studies on cold-blooded animals*. I. *The urine of the fish*, Journ. of biol. Chem. t. 13, 1912-1913. — II. *The blood and urine of fish*, Ibid, t. 16, 1913-1914.
- DESQUEYROUX, J. — *Recherches expérimentales sur les troubles des échanges azotés dans l'intoxication phosphorée aiguë*, Rev. de Médecine 1922.
- DOYON, M. et DUFOURT, P. — *Contribution à l'étude de la fonction uréopoiétique du Foie. Effets de la ligature de l'artère hépatique et de celle de la veine porte*, Arch. de Physiol., t. 10, 1898.
- DUMAS, J. B. et CAHOURS, A. — *Sur les matières azotées neutres de l'organisation*, C. R. Acad. Sc., t. 15, 1842.
- EMMBEN, G. et REESE, H. — *Ueber die gewinnung von Aminosäuren aus normalen Harn*, Hofmeisters Beitr., t. 7, 1905.
- ENRIQUES, P. — *Il fegato dei Molluschi e le sue funzioni*, Mitt Zool. Stat. Neapel, t. 15, 1901.
- FISCHER, E. — *Recherches histologiques et histophysiologiques sur l'appareil excréteur des Crustacés Décapodes*, Mém. Fac. Sc. Paris, N° 262, 1925.
- *L'hépatopancréas des Crustacés excrète des substances puriques*, C. R. Soc. Biol., t. 95, 1926.
- FISKE et SUMMER. — *The importance of the liver in urea formation from aminoacids*, Journ. of Biol. Chem., t. 18, 1914.
- FONTÈS, G. et YOVANOVITCH, A. — *Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang ?*, Bull. de la Soc. de Chim. Biol. t. 7. 1925.
- FOSSE, R. — *Analyse quantitative gravimétrique de l'urée*, C. R. Ac. Sc., t. 158, 1914.

- *Présence de l'urée chez les invertébrés et dans leurs produits d'excrétion*, C. R. Ac. Sc., t. 157, 1913.
- *Recherches sur le mécanisme de la formation de l'urée*, Bull. de la Soc. de Chim. de Biol., t. 2, 1920.
- *Origine et distribution de l'urée dans la nature*, Ann. Inst. Pasteur, t. 30, 1916.
- FOURCROY et VAUQUELIN. — *Mémoire pour servir à l'histoire naturelle chimique et médicale de l'urine*, Ann. de chimie, t. 31 et 32, 1798-1799.
- FRÉDÉRICQ, L. — *Recherches sur la physiologie du Poulpe commun (Octopus vulgaris)*, Arch. de Zool. experim. et gen. t. 7, 1878.
- FÜRTH, O. V. — *Ueber den Stoffwechsel der Cephalopoden*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 31, 1900.
- *Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere*, Jena, G. Fischer, 1903.
- FUSE, N. — *Beiträge zur vergleichenden Biochemie des Hains*, Jap. J. Med. Sci., t. 1, 1925.
- GORUP-BEZANEZ, E. F. — *Guanin, ein wesentlicher bestandteil gewisser sekrete wirbelloser Tiere*, Ann. d. Chemie u. Pharm., t. 69, 1849.
- GRAP, A. — *Hirudineensludien*, Acta Acad. Leop. Carol. d. Naturforscher, t. 32, 1899.
- GRAFE, E. — *Methodisches zur Ammoniakbestimmung in tierischen gewebe*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 48, 1906.
- GRIFFITHS, A. B. — *On the extraction of uric acid crystals from the green gland of Astacus fluvialis*, Proc. of the Roy. Soc. of Edinburgh, t. 38, 1885.
- *Researches on the problematical organs of the Invertebrata*, Proc. of the Roy. Soc. of Edinburgh, t. 14, 1887.
- *On the nephridia of Hirudo medicinalis*, Ibid.
- *Further researches on the physiology of Invertebrata*, Proc. of the Roy. Soc. of London., t. 44, 1888.
- GRIFFITHS et FOLLOWS. — *Chemico-biological examination of the organs of Bojanus in Anodonta*, Chem. News, t. 51, 1885.
- HENRI, V. et LALOU, S. — *Régulation osmotique des liquides internes chez les Echinodermes*, Journ. de Physiol. et Path. générale, t. 6, 1904.
- HENRIQUES, V. et SØRENSEN, S. P. L. — *Ueber die quantitative bestimmungen der Aminosäuren, Polypeptide und der Hippursäure im Harn durch formol titration*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 63, et 64, 1909.
- HENRIQUES, V. et GJALDBÆK, J. K. — *Ueber die quantitativen Bes-*

- timung der im Proteine, oder in dessen Abbauprodukten vorkommenden Peptidbindungen*, Zeitsch. f. phys. Chem., t. 67, 1910.
- HENZE, M. — *Chemisch-physiologische Studien an den Speicheldrüsen der Cephalopoden: das Gift und die stickstoffhaltigen Substanzen des Secretes*, Centralbl. f. physiol., t. 19, 1905.
- *Beiträge zur Muskelchemie der Octopoden*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 43, 1904-05.
- HESSE, O. — *Zum Hunger-stoffwechsel der Weinbergschnecke*, Zeitsch. f. allg. Physiol., t. 10, 1910.
- HEYDE, Van der, H. C. — *Petites contributions à la physiologie comparée*, IV, *Sur l'excrétion des Echinodermes*, Arch. néerland. de Physiol., t. 8, 1923.
- HINARD, G. et FILLON, R. — *Sur la composition chimique des Astéres*, C. R. Ac. Sc., t. 173, 1921.
- HOEFMEISTER, F. — *Ueber bildung des Harnstoffs durch oxydation*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., t. 37, 1896.
- HOPPING, A. — *Seasonal changes in the gases and sugar of the blood and the nitrogen distribution in the blood and urine of the Alligator*, Amer. Journ. of Physiol., t. 66, 1923.
- HORODYNSKI, SALASKIN et ZALESKI. — *Ueber die verteilung des Ammoniaks im blute und den organen normaler und hungernden Hunde*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 35, 1902.
- HUNTER, A. et DAUPHINÉE, J. — *Quantitative Studies concerning the distribution of arginase in Fishes and other animals*, Proc. Roy. Soc., t. 47, Londres, 1925.
- JANSEN, B. C. P. — *Extraktivstoffe aus den schliessmuskeln von Mytilus edulis*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 85, 1913.
- *The function of the liver in urea formation from aminoacids*, Journ. Biol. Chem., t. 21, 1915.
- JOLYET, F. et RÉGNARD. — *Recherches sur la respiration des animaux aquatiques*, Archiv. de Physiol., t. 4, 1877.
- KOWALEVSKI, A. — *Ein beitrage zur Kenntnis der Excretionsorgane*, Biol. Centralbl., t. 9, 1889.
- KOSSEL et DAKIN. — *Ueber die Arginase*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 41 et 42, 1904.
- KOSSEL et EDLBACHER. — *Beiträge zur chemischen Kenntnis der Echinodermen*, Zeitsch. f. physiol. Chem., t. 94, 1915.
- KRUKENBERG. — *Vergleichend-physiologische Studien*, Heidelberg, 1880.
- LACAZE-DUTHIERS. — *Mém. sur l'organe de Bojanus des Acéphales Lamellibranches*, Ann. des Sc. nat., t. 4, 1855.

- LADREY, F. — *Sur le pigment de Sipunculus nudus*, C. R. Soc. Biol., t. 56, 1904.
- LAMBLING, E. — *Précis de Biochimie*, Paris, Masson, 1919.
- LESSER, E. J. — *Chemische Prozesse bei Regenwürmern*, I, *Der Hunger stoffwechsel*, Zeitsch. f. Biol., t. 50, 1908.
- LETELLIER, A. — *Etude de la fonction urinaire chez les Mollusques acéphales*, Archiv. Zool. exp., Série 2, t. 5 bis, 1887 et thèse Sc. Paris, 1887-1888.
- LEWIS, H. B. — *Some analyses of the urine of Reptiles*, Science, (2), t. 48, 1918.
- LEIB, L. et BODANSKY, O. — *The occurrence of uréase in the blood cells, blood plasma and tissues of Limulus*, Journ. Biol. Chem., t. 67, 1926.
- LINDEMANN, W. — *Uramie bei Cephalopoden*, Ziegler's Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol., t. 27, 1900.
- MARCHAL, P. — *Recherches anatomiques et physiologiques sur l'appareil excréteur des Crustacés Décapodes*, Arch. de Zool. expér. et gén., Série 2, t. 10, 1892.
— *Contribution à l'étude de la désassimilation de l'azote. L'acide urique et la fonction rénale chez les invertébrés*, Mém. Soc. Zool. France, t. 3, 1889 et thèse Médecine, Paris, 1888-89.
- MAYER, A. et RATHERY. — *Etude sur le corps fungiforme du Poulpe (Octopus vulgaris)*, Journ. Anat. Phys. Paris, t. 43, 1907.
- MENDEL, L. B. et WELLS, H. G. — *Experimental studies on the Physiology of the Molluscs*, IV, *the purines and purine metabolism of Sycotypus*, Amer. Journ. of Physiol., t. 24, 1909.
- MORGULIS, S. — *The non protein constituents in blood of some marine invertebrates*, J. Biol. Chem., t. 50, 1922.
— *A study of the blood of the crawfish, Palinurus argus, with special reference to the absence of creatinine in Arthropod blood*, J. Biol. Chem. t. 55, xxxvi, 1923.
— *The effect of injections of various substances upon the blood composition of the tortugas crawfish Palinurus argus*, J. Biol. Chem., t. 55, xxxiv, 1923.
- MORRIS, J. L. et MACLEOD, A. G. — *Estimation of uric acid*, J. Biol. Chem., t. 50, 1922.
- MOURSON et SCHLAGDENHAUFFEN. — *Nouvelles recherches chimiques et physiologiques sur quelques liquides organiques*, C. R. Acad. Sc., t. 95, 1882.
- MYERS, R. G. — *Blood of Invertebrates*, J. Biol. Chem., t. 41, 1920.
- NASH et BENEDICT. — *The ammonia content of the blood and its bearing on the mechanism of acid neutralisation in the animal organism*, J. Biol. Chem., t. 48, 1921.

- NENCKI, PAVLOW et ZALESKI. — *Ueber den Ammoniak-gehaltes des blutes und der organe und die Harnstoffbildung bei den Säugethieren*, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., t. 37, 1896.
- OKUDA, Y. — *Nuclease of Fishes and Mollusca*, J. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokio., t. 5, 1916.
- PARNAS, J. K. — *Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang circulant ?*, Bull. Soc. Chim. Biol., t. 9, 1927.
- PÉREZ, Ch. — *Résorption saisonnière des glandes génitales chez les Etoiles de mer*, Proc. verb. séances, Soc. Sc. phys. et natur. Bordeaux, 19, 1908-1909.
- PRZYLECKI, St. J. — *Présence et répartition de l'urée chez les Invertébrés*, Arch. int. Physiol., t. 20, 1922.
— *L'excrétion ammoniacale chez les invertébrés dans les conditions normales et expérimentales*, Ibid, t. 20, 1922.
— *Le rôle de l'ammoniaque dans la dégradation des protéiques*, Ibid, t. 24, 1925.
— *La dégradation de l'acide urique chez les Vertébrés*, Ibid, t. 25, 1925 et t. 26, 1926.
— *La répartition et la dégradation de l'acide urique chez les Invertébrés*, t. 27, 1926.
- PRZYLECKI, OPIENSKA et GIEDROYC. — *L'excrétion de substances azotées chez les Grenouilles à différentes températures*, Archiv. int. Phys., t. 20, 1922.
- PÜTTER, A. — *Der Stoffwechsel des Blutegels (Hirudo medicinalis)*, Zeitsch. f. allg. Physiol. t. 6 et 7, 1907.
- RODIER, E. — *Observations et expériences comparatives sur l'Eau de mer, le Sang et les Liquides internes des animaux marins*, Bull. Stat. Zool. Arcachon, t. 3, 1899.
- ROMIEU, M. — *Recherches histo-physiologiques sur le sang et sur le corps cardiaque des Annélides Polychètes*. Arch. de Morphol. gén. et exper., Fasc. 17, 1923.
- RONCHÈSE. — *Méthodes de dosage de quelques composés azotés*, thèse Pharm. Paris, 1908.
- SALASKIN. — *Ueber die bildung von harnstoff in der leber der Säugethiere aus amidosäure der fettreihe*, Zeitsch. f. phys. Chem., t. 25, 1898.
- SANZO, L. — *Zur Kenntnis des Stickstoff-stoffwechsels bei marinen Tieren*, Biol. Centralbl., t. 27, 1907.
- SCHROEDER. — *Ueber die bildungstätte des harnstoffs in der Leber*, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., t. 19, 1885.
- SLYKE, D. van. — *The present signifiance of the amino acids in physiology and pathology*, Arch. int. Méd., t. 19, 1917.

- ŠTROHL, J. — *Die excretion : Mollusken*. Handb. d. vergleich. Physiol. H. Winterstein, t. 2, p. 443-601.
- SULIMA, A. — *Beiträge zur Kenntnis des Harnsäure stoffwechsels niederer Tiere*, Zeitsch. f. Biol., T. 63, N. F. 45, 1913-14.
- SZALAGYI, K. et KRIWUSCHA, A. — *Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung u. die physikalischen eigenschaften des Enten-und Hühnerharns*, Bioch. Zeitsch., t. 66, 1914.
- TAYLOR et LEWIS. — *On the predominance of the liver in the formation of urea*, Journ. Biol. Chem., t. 22, 1915.
- TURCHINI, J. — *Contribution à l'étude de l'histologie comparée de la cellule rénale. L'excrétion urinaire chez les Mollusques*, Archiv. de Morph. gén. et expér., Fasc. 18, 1923.
- WEINLAND, E. — *Ueber die Zersetzung der stickstoffhaltigen substanz bei Ascaris*, Zeitsch. f. Biol., t. 42, 1901.
- WILLEM et MINNE. — *Recherches sur l'excrétion chez quelques Annélides*, Mém. cour. Acad. Roy. Belgique, Série 1, 1899.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	3
CHAPITRE I. — Aperçu historique	9
Urée	12
Ammoniaque	15
Acide urique	17
Purines	20
CHAPITRE II. — Technique	23
1°. — Animaux étudiés	23
2°. — Récolte des matériaux d'étude	24
a) Déchets azotés solubles évacués dans le milieu extérieur.	24
b) Déchets azotés contenus dans les liquides du milieu intérieur	28
c) Déchets azotés contenus dans les organes frais et autolysés	30
3°. — Recherches chimiques	33
a) Données générales. Essais préliminaires	33
b) Dosage au formol de très petites quantités d'azote ammoniacal	34
c) Dosage de l'azote non protéique total	36
d) Dosage de l'azote du filtrat et du précipité Ph W	37
e) Dosage de l'azote aminé libre et de l'azote volatil titrable au formol	39

f) Dosage de l'azote aminé combiné	42
g) Dosage de l'azote uréique	43
h) Dosage de l'azote purique	44
i) Dosage de l'azote de l'acide urique	46
j) Dosage du glycogène	48
 CHAPITRE III. — Etude analytique	51
ECHINODERMES.....	51
1°. — <i>Astérias rubens</i>	53
a) Déchets azotés évacués dans le milieu extérieur.....	53
b) Déchets azotés contenus dans le liquide cavitare.....	56
c) Etude comparée de la répartition de l'azote non pro- téique dans les liquides d'excrétion et le liquide cavitare.	59
d) Déchets azotés contenus dans les organes (cæcum radiaux, organes génitaux).....	60
2°. — <i>Paracentrotus lividus</i>	64
a) Recherches sur les déchets azotés contenus dans l'eau de mer et dans le liquide cavitare.....	64
b) Déchets azotés contenus dans quelques organes (intes- tins, organes génitaux).....	67
3°. — <i>Holothuria tubulosa</i>	69
VERS	75
1°. — <i>Aphrodite aculeata</i>	77
2°. — <i>Lumbricus agricola</i>	79
3°. — <i>Sipunculus nudus</i>	82
4°. — <i>Hirudo officinalis</i>	88
CRUSTACÉS DÉCAPODES	94
1°. — <i>Maja squinado</i>	100
a) Déchets azotés contenus dans le liquide de la vessie et dans le liquide cavitare.....	100
b) Déchets azotés contenus dans l'hépatopancreas.....	103
2° — <i>Astacus fluviatilis</i>	105
a) Déchets azotés évacués dans le milieu extérieur et les déchets contenus dans le sang.....	105
b) Déchets azotés contenus dans les organes.....	107

3°. — <i>Carcinus mœnas</i>	108
4°. — <i>Cancer pagurus</i>	110
5°. — <i>Palinurus vulgaris</i>	111
MOLLUSQUES	113
<i>Lamellibranches</i>	114
1°. — <i>Mya arenaria</i>	118
2°. — <i>Gryphœa angulata</i> et <i>Mytilus edulis</i>	120
<i>Céphalopodes</i>	122
1°. — <i>Sepia officinalis</i>	129
a) Déchets azotés de l'urine et du sang.....	129
b) Déchets azotés contenus dans les sécrétions (Liquide gastrique, Encre)	131
c) Déchets azotés contenus dans le foie frais et autolysé....	132
d) La répartition p. 100 de l'N non protéique dans quelques organes	134
2°. — <i>Octopus vulgaris</i>	135
<i>Gastéropodes</i>	137
1°. — <i>Aplysia limacina</i>	142
2°. — <i>Hélix pomatia</i>	145
a) Déchets azotés évacués dans le milieu extérieur.....	145
b) Déchets azotés contenus dans le sang, le rein, le foie frais et autolysé.....	146
3°. — <i>Limax agrestis</i>	149
CHAPITRE IV. — Etude comparative et générale	153
1°. — Ammoniaque et bases azotées volatiles	153
a) Excrétion ammoniacale ; essais sur les causes de sa variabilité	153
b) Le siège et les mécanismes chimiques de la production de l'ammoniaque	159
2°. — Excrétion d'azote aminé et Amino-acidogénèse.....	167

3°. — Excrétion d'urée et Uréogénèse.....	169
4°. — Excrétion et formation de l'acide urique	174
5°. — Excrétion et formation des bases puriques	178
RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES	181
BIBLIOGRAPHIE	185

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Botanique. — Les diastases des Levures.

Géologie — Tertiaire de l'Aquitaine.

Vu et approuvé :

Paris, le 14 novembre 1927

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,

C. MAURAIN

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

S. CHARLÉTY

LES IMPRIMERIES SIRAUDEAU

Angers-Bordeaux

80 bis, cours de l'Argonne

BORDEAUX



